Lane Medical Library

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut der Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Beller

Untersuchungen über die Trichomonaden des Hausgeflügels, insbesondere des Haushuhnes

STANFORD UNIV. JUL 25 19 LIBRARY

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Hans Scherle
Tierarzt
aus Todtnau

Gießen 1938

Buchdruckerei Heinz Meyer, Gießen, Ludwigstraße 30

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut der
Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Beller

Untersuchungen über die Trichomonaden des Hausgeflügels, insbesondere des Haushuhnes

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Hans Scherle
Tierarzt
aus Todtnau

Gießen 1938

Buchdruckerei Heinz Meyer, Gießen, Ludwigstraße 30

Gedruckt mit Genehmigung der veterinär-medizinischen Fakultät zu Gießen

Referenten: Prof. Dr. K. Beller
Prof. Dr. D. Küst

Inhaltsverzeichnis.

A. Einführung 5
B. Schrifttum 6
C. Eigene Untersuchungen 9
I. *Versuchstiermaterial* 9
II. *Untersuchungstechnik* 9
III. *Vorkommen der Trichomonaden* 13
1. bei gesunden Hühnern 13
a) im oberen Verdauungsapparat 13
b) in den oberen Luftwegen 14
c) im Darm 14
d) im Eileiter 15
2. bei erkrankten Hühnern 16
a) im oberen Verdauungsapparat 17
b) in den oberen Luftwegen 19
c) im Darm 20
IV. *Züchtung der Trichomonaden* 22
V. *Morphologie* 26
1. der Rachentrichomonaden des Huhnes 26
2. der Darmtrichomonaden des Huhnes 29
3. der Darmtrichomonaden der Ente . 32
4. der Flagellaten aus der Gattung der Bodonidae 33
VI. *Pathogene Bedeutung der Trichomonaden* 34
D. Schlußfolgerungen 51
E. Literaturverzeichnis 53
F. Lebenslauf 55

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154009_0223

A. Einführung.

Da systematische Untersuchungen auf Trichomonaden beim Hausgeflügel, mit Ausnahme der Tauben, die in letzter Zeit wiederholt Gegenstand einschlägiger Untersuchungen waren, bisher nicht durchgeführt wurden, war es angezeigt, das Vorkommen, die kulturelle Züchtung, die Morphologie und die pathogene Bedeutung anderer Geflügeltrichomonaden zu prüfen.

Diese Zielsetzung war besonders deswegen am Platze, weil den Trichomonaden in neuerer Zeit sowohl beim Menschen als auch bei unseren Haustieren, insbesondere beim Rind und bei der Taube, eine pathogene Bedeutung zugesprochen wird.

Aus pathogenetischen und epidemiologischen Gründen stand daher an erster Stelle im Untersuchungsplan die Erforschung der Morphologie der vorgefundenen Trichomonaden zur Feststellung ihrer Organ- bzw. Wirtsspezifität, um auf diese Weise zu ergründen, wie weit ein von Trichomonaden befallenes Organ von einem andern bzw. eine Tierart von der anderen infiziert werden kann.

Weiterhin war die Klärung der Frage bedeutungsvoll, wie weit die Trichomonaden bei starkem Auftreten einen vorhandenen Krankheitsprozeß, z. B. die Virus-Diphtherie oder eine Darmentzündung (Kokzidiose u. a.), in ihrem Verlauf beeinflussen können.

In diesem Zusammenhang war es außerdem möglich, zu prüfen, ob allein durch Trichomonaden eine diphtheroide Entzündung der Schleimhäute in Gestalt der echten Virus-Diphtherie erzeugt werden kann.

B. Schrifttum.

Die Flagellaten unseres Hausgeflügels, insbesondere des Haushuhnes, sind noch ziemlich unbekannt.

Die ersten Angaben über das Vorkommen von Flagellaten beim Hausgeflügel stammen von Rivolta (1878). In dem Lehrbuch über Geflügelkrankheiten von Rivolta und Delprato (1880) werden zwei angeblich in die Gattung Cercomonas gehörende Arten — Cercomonas gallinae und Cercomonas hepatica — unterschieden. Die im Schlunde vorkommenden Flagellaten werden als Cercomonas gallinae bezeichnet und sollen eine Pseudo-Krupp genannte Krankheit erzeugen. Es wird je ein Fall von einem jungen Huhn und einer Nesttaube beschrieben. Bei der Taube handelte es sich wohl sicher um einen echten Fall von Trichomoniasis mit diphtheroider Entzündung der Rachenschleimhaut. Dagegen ist nicht eindeutig klar, ob die beim Huhn festgestellten entzündlichen Erscheinungen des Schlundes tatsächlich auf Trichomonaden zurückgeführt werden können.

Die zweite Flagellaten-Art — Cercomonas hepatica — fand Rivolta in den nekrotischen Leberherden einer jungen Taube; diese ist aber, wie Bos (1934) nachgewiesen hat, mit den Flagellaten des Rachens identisch.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß es sich bei den von Rivolta mit zwei Geißeln beschriebenen Cercomonas-Arten tatsächlich um Trichomonaden gehandelt hat, da Cercomonas nur über eine Geißel verfügt. Daß er sowohl bei der Taube als auch beim Huhn Trichomonaden nachgewiesen hat, dürfen wir daraus entnehmen, daß er zwei verschiedene Arten erwähnt.

An Darmtrichomonaden ist bisher von Martin und Robertson (1911) Tetratrichomonas gallinarum beschrieben worden, die im Blinddarm des Haushuhnes vorkommt und 5,4 bis 7 μ in der Länge und 5 bis 6 μ in der Breite mißt. Vom „Blepharoplast" entspringen 4 gleichlange Geißeln und eine undulierende Membran; parallel der letzteren verläuft ein Basalfaden.

Zwischen undulierender Membran und Basalfaden liegt eine Reihe färbbarer Schollen. Ein Achsenstab fehlt in der Regel; er wurde aber gelegentlich doch beobachtet. Ein Cytostom am Vorderende vermittelt die Aufnahme geformter Nahrung.

Trichomonas Eberthi, die ebenfalls von Martin und Robertson beschrieben wurde, ist eine schlanke, rübenförmige Art von 9 bis 10 μ Länge mit drei Geißeln und einer breiten, stattlichen undulierenden Membran. Das Hinterende ist lang zugespitzt und wird überragt von der scharfen Spitze des Achsenstabes. Längs der undulierenden Membran verläuft ein starker Basalfaden. Um den großen schollig färbbaren Kern liegen zwei Reihen färbbarer Körnchen. Ein Zytostom befindet sich neben dem Kern. Regelmäßig vergesellschaftet mit Trichomonas Eberthi ist nach Martin und Robertson Eutrichomastix gallinarum. Morphologisch stimmt diese mit den Trichomonasformen überein, nur ist sie kleiner (5 μ lang) und hat eine vierte freie Schleppgeißel, jedoch keine undulierende Membran.

Beide Arten kommen im Blinddarm des Haushuhnes vor.

Weinzirl (1917) berichtet über das Vorkommen von Trichomonaden bei Kücken. Die befallenen Tiere waren traurig, ließen die Flügel hängen, hielten die Augen geschlossen und hatten einen blassen Kamm. Bei der Sektion waren nur die Blinddärme „leicht geschwollen". Diese Art wurde als Trichomonas pullorum bezeichnet.

Volkmar (1930) hat bei einer Seuche, die 1925 bis 1930 unter Truthühnern herrschte, eine Trichomonade beobachtet, die er als Trichomonas diversa bezeichnete. Bei 105 an der Seuche gefallenen Tieren wurden Trichomonaden in großer Menge in der Schnabelhöhle, in der Speiseröhre, im Kropf und im Drüsenmagen, aber nie im Muskelmagen und im Darm, nachgewiesen. Die klinischen Erscheinungen bestanden in einem Schleimhautkatarrh der oberen Verdauungswege mit „Hängekropf". In der Schleimhaut saßen graue und grau-gelbliche tumorenähnliche Herde, von denen die älteren bis zur Serosa vordrangen. Die größeren zeigten eine rauhe nekrotische Oberfläche. Im Drüsenmagen erreichten sie eine solche Größe, daß sie das Passieren fester Nahrung verhinderten. Der Parasit — mit drei freien Geißeln ausgestattet — veränderte in der Bewegung seine Form. Nach dem Sitz im oberen Verdauungsapparat, nach dem Vorkommen bei bestimmten Veränderungen der Truthühner, nach der verschiedenen morphologischen Beschaffen-

heit dieser Flagellaten mit anderen bekannten Arten, scheint es sich nach Volkmar um eine neue Spezies zu handeln.

Ob nun diese Trichomonade nur ein harmloser Mitesser ist, oder ob sie die Veränderungen sekundär hervorgerufen hat, oder ob sie die eigentliche Ursache der beschriebenen Krankheit bildete, ist fraglich. Auffallend war das Vorkommen dieser Trichomonade bei allen 105 Todesfällen und das Fehlen von Trichomonaden im oberen Verdauungsapparat bei etwa 1700 Truthühnern, die zur Kontrolle untersucht wurden. Die Art der Infektion und Übertragung konnte nicht festgestellt werden.

Yakimoff (1934) berichtet über das Vorkommen von Trichomonaden im Rachen von Hühnern, die er ohne nähere Beschreibung als Trichomonas halli bezeichnet. Auf der Schleimhaut des Schnabels eines Hahnes im Nord-Kaukasus fand er diese neue Trichomonadenart, die größer ist als die von Martin und Robertson (1911) beschriebene Tetratrichomonas gallinarum.

C. Eigene Untersuchungen.*)

I. *Versuchstiermaterial.*

An Versuchstieren standen mir Hühner verschiedener Rassen, jeglichen Alters, aus Zuchtbetrieben und kleinbäuerlichen Beständen, Enten und auch Gänse zur Verfügung. Tauben wurden nicht berücksichtigt, da hierüber — wie bereits erwähnt — umfassende Untersuchungen u. a. von Mießner und Hansen (1936), von Schaaf (1937) und von Schaaf und Schmitt (1937) vorliegen.

Da Trichomonaden — wie aus dem Schrifttum hervorgeht — im Rachen, im Darm und in der Leber gefunden wurden, widmete ich der Untersuchung dieser Organe besondere Aufmerksamkeit. Um aber ein möglichst geschlossenes Bild über das Vorkommen der Trichomonaden im Organismus zu gewinnen, wurden die Untersuchungen auf die verschiedensten Organe und Organabschnitte ausgedehnt (Schlund, Kropf, Drüsenmagen, Muskelmagen, Dünn- und Dickdarm, Nasenhöhle, Luftröhre, Eileiter u. a.).

II. *Untersuchungstechnik.*

1. Mikroskopische Untersuchung.

a) Untersuchung des Rachens, des Schlundes und des Kropfes auf Trichomonaden.

Mit einem mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Wattebausch wurden Schleimproben aus Rachen bzw. Schlund und Kropf von Hühnern entnommen, die laufend zu diagnostischen Zwecken oder zu anderen wissenschaftlichen Untersuchungen im Tierseuchen-Institut anfielen. Diese so entnommenen Schleimproben wurden zunächst mikroskopisch untersucht, da dies die einfachste, sicherste und bequemste Methode zum Nachweis von Trichomonaden

*) Die Untersuchungen wurden mit den von der Landesbauernschaft Hessen-Nassau zur Verfügung gestellten Mitteln durchgeführt.

ist, und bei negativem Ergebnis in Kultur gebracht. Auf kulturelle Art gelingt es oft, selbst bei negativem Ausfall der vorausgegangenen unmittelbaren mikroskopischen Untersuchungen, noch Trichomonaden mit Sicherheit nachzuweisen.

b) Untersuchung der Nasenhöhle und Luftröhre auf Trichomonaden.

Am lebenden Tier wurde versucht, durch Untersuchung des Nasensekretes bzw. Exsudates Klarheit über das Vorkommen von Trichomonaden in den oberen Luftwegen zu erhalten. Eine genauere Untersuchung in dieser Richtung erfolgte am toten Tier nach vorsichtiger Öffnung der Nasenhöhle und der Luftröhre.

c) Untersuchung des Darmes auf Trichomonaden.

Die mikroskopische und kulturelle Untersuchung erfolgte am lebenden Tier durch direkte Entnahme einer Kotprobe aus der Kloake. Bei frisch geschlachtetem Geflügel wurden die Inhaltsmassen des Dünndarmes und Blinddarmes untersucht.

2. Kulturelle Untersuchungstechnik.

Für die Züchtung bzw. den kulturellen Nachweis der Trichomonaden wurde eine Reihe von Nährböden, wie der modifizierte Nährboden nach Dobell und Laidlaw, Schrägagar, Blutbouillon und Kochblutbouillon u. a. verwandt.

Ein modifizierter Locke-Ei-Serum-Nährboden nach Boeck und Drbohlav (1925) hat sich als der geeignetste für die vorgefundenen Trichomonadenarten erwiesen, dessen Herstellung kurz beschrieben werden soll:

Vier Eier werden gewaschen, mit Seife gebürstet, mit Alkohol desinfiziert, mit sterilem Messer aufgebrochen und in ein Schüttelglas mit Glasperlen entleert. Nach Zugabe von 50 ccm Locke-Lösung*) und 40 ccm sterilem Pferdeserum (10 ccm pro Ei) wird die Masse bis zur gleichmäßigen Verteilung durchgeschüttelt.

---

*) Zusammensetzung der Locke-Lösung nach Boeck und Drbohlav (1925):

Aqua dest.	1000,0 ccm
Na Cl	9,0 g
Ca Cl_2	0,2 g
K Cl	0,4 g
Na H $C0_3$	0,2 g
Dextrose	2,5 g

Die Lösung wird im Autoklaven sterilisiert.

Die Flüssigkeit wird in sterile Reagenzgläser abgefüllt, schräg gelegt, in einem Serum-Erstarrungsofen innerhalb einer Stunde bis zu 80° erhitzt und dann eine halbe Stunde einer Temperatur von 80 bis 85° ausgesetzt.

Der schräg erstarrte Nährbodenanteil wird mit einer Nährflüssigkeit, bestehend aus einem Gemisch von 9 Teilen physiologischer Kochsalzlösung und einem Teil Hühnereiweiß überschichtet. Die günstigste Menge der aufgeschichteten Flüssigkeit beträgt nach Drbohlav 3 bis 4 ccm.

Da Reinkulturen von Trichomonaden aus dem Ausgangsmaterial, das stets stark bakteriell verunreinigt war, nicht zu erlangen waren, und so das Vorhandensein von Trichomonaden in der Kultur makroskopisch durch leichte Trübung und Gasbildung nicht festzustellen war, mußte hierzu die tägliche mikroskopische Untersuchung herangezogen werden.

Die Bebrütung des auf Trichomonaden zu untersuchenden Materials in den Kulturröhrchen fand bei 37° im Brutschrank statt. Die Röhrchen wurden mit einem Wattestopfen verschlossen. Bei positiver Kultur konnte das erste Wachstum, der Nachweis vereinzelter Flagellaten, bereits nach 24 Stunden langer Bebrütung ermittelt werden. Nach 48 Stunden war die Vermehrung sehr lebhaft und erreichte mit dem dritten Tag der Bebrütung ihren Höhepunkt.

Da das Wachstum der Trichomonaden in der Kultur an der tiefsten Stelle, in der Kuppe des Reagenzröhrchens, stets am besten ist, so bietet das Entnehmen des Bodensatzes mit einer sterilen Kapillarpipette aus der Kuppe des Röhrchens, besonders dann, wenn Trichomonaden in der Kultur nur spärlich vorhanden sind, weit bessere Erfolge, als die Entnahme mit der Platinöse.

Zur mikroskopischen Untersuchung wurden auf diese Weise 2 bis 3 Tropfen auf den Objektträger gebracht, mit Deckgläschen bedeckt und mit einem starken Trockenobjektiv (6, 6a, oder 6L von Leitz und Okular 6x) untersucht. Auf gleiche Art wurde auch das frisch entnommene Material auf Trichomonaden geprüft. Die Betrachtung der mit dem Giemsa-Farbstoff oder auch nach Heidenhain gefärbten Ausstriche wurde mit dem Ölimmersionsobjektiv $^1/_{12}$a vorgenommen.

Daneben wurden die Vital-Präparate im Dunkelfeld geprüft, um die Art der Bewegung und — soweit möglich — auch die Morphologie zu studieren.

3. Färbung der Trichomonaden.

Die Darstellung der nach Nöller (1924) mit dem Giemsa-Farbstoff gefärbten Trichomonaden wurde wie folgt ausgeführt.

Nach 48stündigem Bebrüten der Kultur wurde der flüssige Nährbodenanteil bis auf ein geringes Sediment abgehebert, ein Tropfen des Bodensatzes auf den Objektträger möglichst dünn ausgestrichen, in heißgesättigter Sublimatlösung 20 Minuten bei 37° fixiert, aus dieser herausgenommen und 10 Minuten in schwach fließendem Leitungswasser gewässert. Nach Herausnahme und kurzem Abtropfenlassen wurden die Präparate in frisches, filtriertes Pferdeserum gelegt. Nach etwa 7 bis 10 Minuten wurden sie wieder herausgenommen, das Serum auf der schichtfreien Seite mit feuchtem Lappen abgewischt und die Präparate aufrechtstehend an der Luft getrocknet. Die vollkommen lufttrockenen Präparate wurden etwa 15 bis 20 Minuten in 96%igem Alkohol fixiert.

Darauf kann man das Präparat wie ein Trockenpräparat behandeln. Man kann es einige Tage ungefärbt aufheben oder aber auch sofort färben.

Die Färbung geschah mit der gewöhnlichen Giemsalösung in der üblichen Verdünnung (ein Tropfen auf 1 ccm Aqua dest.).

Bei der Geißel-Färbung hatte ich bessere Erfolge mit zwei Tropfen Giemsalösung auf 1 ccm Aqua dest. Nach 2 bis 6 Stunden wurde das gefärbte Präparat mit Leitungswasser abgespült und feucht nochmals ganz kurz in Serum eingetaucht, das rasch den überschüssigen Farbstoff auszog. Wiederum wurde die schichtfreie, unbenutzte Seite des Anstriches mit einem feuchten Lappen abgewischt, damit diese nicht eine Serumkruste erhielt.

Die Färbemethode nach Heidenhain mit Eisenhämatoxylin lieferte ebenfalls gute Präparate. Besonders den verwickelten Geißel-Apparat stellte diese Art der Färbung klar heraus.

Die möglichst dünnen Deckglasausstriche wurden ebenfalls in heiß-gesättigter Sublimatlösung 20 Minuten bei 37° fixiert. Darauf wurden die Ausstriche 10 Minuten in schwach fließendem Leitungswasser gewässert und eine halbe Stunde in 96%igem Alkohol fixiert. Die besten Erfolge bei dieser Färbe-Methode zeigten sich nach wiederholten Versuchen bei folgendem Verfahren:

Die in Alkohol fixierten Präparate wurden nur 3 Stunden in 2½%iger Eisenoxydammoniumsulfatlösung („Eisenalaun") gebeizt.

Die Beizungsflüssigkeit muß stets frisch zubereitet werden. 2½ g Eisenoxydammoniumsulfat werden in 100 ccm destilliertem

Wasser gelöst. Alte Lösungen zersetzen sich leicht und werden unwirksam.

Nach der Beizung wurden die in destilliertem Wasser gut abgespülten Präparate 30 bis 40 Minuten in filtrierter Hämatoxylin-Lösung nach Heidenhain gefärbt.

1 g Hämatoxylin wird mit 10 ccm 96%igem Alkohol in einem braunen Glas umgeschüttelt und nach vollständiger Auflösung werden 90 ccm destilliertes Wasser zugegeben. Die gleiche Lösung kann wiederholt verwendet werden, nur ist sie, besonders um Niederschläge zu vermeiden, jeweils vor Gebrauch zu filtrieren.

Nach der Färbung wurden die Präparate wiederum gut abgespült und kurz in einer 1%igen Eisenalaunlösung differenziert. Mit recht gutem Erfolge wurden die Präparate nach der Differenzierung noch 24 bis 48 Stunden in Leitungswasser, das wiederholt erneuert wurde, gelegt, wodurch die ganze Struktur, insbesondere die Geißeln, tiefblau bis schwarz gefärbt hervortraten. Nach Entwässern wurden dann die gefärbten Ausstriche in Kanadabalsam eingebettet.

III. *Vorkommen der Trichomonaden.*

Die Untersuchung auf Trichomonaden erfolgte an *gesunden* und *kranken* Tieren. Zu diesem Zwecke wurde der Verdauungsapparat in seinen verschiedenen Abschnitten, ferner der Atmungsapparat mikroskopisch und kulturell auf Trichomonaden untersucht.

Zunächst sollte einmal ein Überblick über die Verbreitung der Trichomonaden bei gesunden Tieren gewonnen werden, bei denen sie also nur eine saprophytäre Rolle spielen können. Die Prüfung kranker Tiere wurde aus dem Grunde vorgenommen, um festzustellen, wie weit Trichomonaden als alleinige Krankheitserreger in Betracht kommen, bzw. wie häufig sie bei entzündlichen Vorgängen im Organismus anzutreffen sind.

1. Vorkommen von Trichomonaden bei gesunden Tieren.

a) Trichomonadennachweis im oberen Verdauungsapparat.

Auf oben beschriebene Art wurden über 400 völlig gesunde Tiere aus verschiedenen Zuchtbetrieben und Bauernbeständen mikroskopisch und kulturell untersucht, um zu prüfen, wie weit hygienische Einflüsse, insbesondere Haltung und Fütterung, für das Vorkommen von Trichomonaden etwa von Bedeutung sein könnten.

Trichomonaden aus dem Schlund bzw. aus dem Kropf konnten nur bei einem Tier nachgewiesen werden:

Rebhuhnfarbenes Italienerhuhn, 4 bis 5 Jahre alt, aus einem kleinbäuerlichen Bestande. Obwohl Trichomonaden wiederholt nachgewiesen werden konnten, zeigte die Schleimhaut des Schnabels und des Schlundanfanges bei dem Tiere keinerlei Veränderungen. Auch am später geschlachteten Tier konnten Krankheitserscheinungen nicht festgestellt werden.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich das seltene Vorkommen von Trichomonaden auf der kutanen Schleimhaut des Rachens und Schlundes bei gesunden Hühnern (Tabelle I).

Dasselbe negative Ergebnis brachte auch die Untersuchung von 45 Enten und 6 Gänsen, bei denen keine Trichomonaden gefunden werden konnten.

Im Gegensatz hierzu wurden bei Tauben u. a. nach Oguma (1931), Cauthen (1935) und auch nach eigenen Untersuchungen Trichomonaden ziemlich häufig selbst auf der gesunden Schleimhaut gefunden. Oguma fand in einem Taubenbestand auf Long Island N. Y. bei der Untersuchung von über 200 Tieren verschiedener Rassen durchweg Trichomonaden im Kropf. Unter 50 von mir untersuchten Handelstauben konnte ich bei 18 Tieren teils schon mikroskopisch, teils kulturell Trichomonaden im Rachen nachweisen.

b) Trichomonadennachweis in den oberen Luftwegen.

Ein völlig klares Bild über das Vorkommen von Trichomonaden in der Nasenhöhle und der Luftröhre konnte, wie schon erwähnt, nur bei vorsichtiger Zerlegung der geschlachteten Tiere erbracht werden.

Die Schleimhautabstriche aus Nasenhöhle und Luftröhre von 125 frisch geschlachteten, in diesen Organabschnitten völlig gesunden Tieren, waren sowohl mikroskopisch als auch kulturell negativ. Auch bei dem gesunden Tier, bei welchem Trichomonaden im Schlund wiederholt gefunden wurden, konnten nach der Schlachtung weder in der Nasenhöhle noch in der Luftröhre Trichomonaden kulturell nachgewiesen werden.

Wie aus diesen Untersuchungen hervorgeht, waren Trichomonaden in Nasenhöhle und Luftröhre bei gesunden Tieren nicht nachweisbar (Tabelle I).

c) Nachweis von Darmtrichomonaden.

Wie sich bei mehrfacher Untersuchung des Darmes auf Trichomonaden herausstellte, konnten diese Flagellaten 20 bis 24 Stunden nach dem Tode des Tieres, auch auf kulturellem Wege, nicht mehr

nachgewiesen werden, obwohl sie bei lebenden bzw. frisch geschlachteten Tieren vorhanden waren. Deshalb führte die Untersuchung tot eingesandter Tiere nicht zu einem klaren Überblick über die Verbreitung der Darmtrichomonaden bei gesunden, oder jedenfalls nicht darmkranken Tieren. Insgesamt wurden über 70 Hühner mit negativem Ergebnis untersucht.

Wegen dieses Mißerfolges wurden nunmehr nur noch frisch geschlachtete Tiere auf die Anwesenheit von Trichomonaden im Darm untersucht. Es handelte sich dabei um 45 Tiere, die mit Marek'scher Hühnerlähme, bösartiger Neubildung und anderen Krankheiten behaftet waren. Bei 22 dieser Tiere konnten Trichomonaden zum Teil schon mikroskopisch in den Blinddärmen gefunden werden. Weniger häufig waren Trichomonaden im Dünndarm vorhanden. Oft gelang der Nachweis nur durch Anlegen von Kulturen aus verschiedenen Abschnitten des Dünndarmes, oft auch überhaupt nicht, obwohl bei dem gleichen Tier in den Blinddärmen Trichomonaden mäßig zahlreich vorhanden waren.

Diese Tatsache legt den Gedanken nahe, daß den Trichomonaden in den auch verdauungsphysiologisch grundsätzlich vom Dünndarm verschiedenen Blinddärmen bessere Lebensbedingungen geboten werden.

Außerdem gelang es durch Entnahme einer Kotprobe aus der Kloake unter 65 Hühnern Trichomonaden bei 9 Tieren nachzuweisen. Teilweise führte schon die unmittelbare mikroskopische Untersuchung zu einem positiven Ergebnis.

Auch aus dem frisch abgesetzten Kot wurden Trichomonaden gezüchtet.

Auf die gleiche Art konnten bei 10 Enten dreimal Trichomonaden in der Kloake nachgewiesen werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Trichomonaden im gesunden Darm unseres Hausgeflügels häufig anzutreffen sind und auch ausgeschieden werden. Etwa 50 % der untersuchten gesunden Blinddärme von Hühnern beherbergten Trichomonaden, ohne irgendwelche Schleimhautveränderungen hervorzurufen. Auch in der Kloake bzw. im abgesetzten Kot wurden Trichomonaden nachgewiesen.

d) Vorkommen von Trichomonaden im Eileiter.

Von 18 frisch geschlachteten Tieren, bei welchen Trichomonaden im Darm nachgewiesen waren, wurden die Eileiter kulturell

auf Trichomonaden geprüft, jedoch stets mit negativem Ergebnis (Tabelle I).

Eine Einwanderung aus dem Darm in den Eileiter scheint demnach nicht vorzukommen. Es ist auch nach diesen Untersuchungsergebnissen unwahrscheinlich, daß Trichomonaden im Ei vorkommen können, nicht zuletzt aus dem Grunde, weil Trichomonaden im unverdünnten Hühnereiweiß oder im Ei selbst, wie entsprechende Versuche von Schaaf und Schmitt (1937) mit Taubentrichomonaden zeigten, nicht gedeihen.

Tabelle I

Vorkommen von Trichomonaden bei gesunden Tieren.

	Zahl der untersuchten Tiere	positive Tiere	negative Tiere	positive Tiere in %
a) Oberer Verdauungsapparat	451	1	450	0,22
b) Obere Luftwege	125	—	125	—
c) Blinddarm	45	22	23	48,4
d) Kloake	75	12	63	16,0
e) Eileiter	18	—	18	—

2. Vorkommen von Trichomonaden bei kranken Tieren.

Da bei gesunden Tieren Trichomonaden in den oberen Verdauungswegen und im Darm nachgewiesen wurden, lag es nahe, nach Trichomonaden besonders bei den Krankheiten dieser Organabschnitte zu fahnden. Ist es doch bekannt, daß sich Trichomonaden bei Mensch und Tier hauptsächlich in entzündlichen Prozessen exsudativer Art zahlreich vorfinden und zwar in verschiedenen Organen, in denen sie sonst saprophytär nur vereinzelt anzutreffen sind.

Beim Geflügel ist dies bisher für die Trichomoniasis der Tauben bekannt, bei der Trichomonaden u. a. in den diphtheroiden Entzündungsmassen des Rachens und des Schlundes, im Nabel und, sofern eine exsudative Leibeshöhlenentzündung dabei vorliegt, auch hier anzutreffen sind.

a) Vorkommen von Trichomonaden im oberen Verdauungsapparat.

Unter 225 z. T. hochgradig an Schnupfen erkrankten Tieren konnten siebenmal Trichomonaden im Rachen gefunden werden.

1. Fall: Rebhuhnfarbener Italiener-Hahn, 1 Jahr alt, zeigte klinisch keinerlei Krankheitserscheinungen außer starkem sero-fibrinösem Nasenausfluß. Auf der Schnabelschleimhaut konnten keine Beläge oder sonstige Veränderungen festgestellt werden. Gleichzeitig waren etwa 20 Tiere der gleichen Stallabteilung, die ebenfalls hochgradig an Schnupfen erkrankt waren, trichomonadennegativ.

2. Fall: Etwa 5 Jahre altes Landhuhn aus einem kleinbäuerlichen Bestande mit sero-mukösem, fast eitrigem Nasenausfluß und geringem Ausfluß aus den Augen. Schnabel- und Rachenhöhle waren mit einem kruppösen Belag bedeckt, der sich auch noch bis in den Anfangsteil des Rachenschlundes ausbreitete, aber sich leicht mit der Pinzette abheben ließ.

Der Rachenabstrich dieses Tieres war schon im Nativpräparat positiv. Die hiervon angelegte Kultur war nach 24 Stunden schon sehr stark angereichert. Diesen Stamm züchtete ich auch durch tägliches Überimpfen weiter.

Um festzustellen, wie weit die Trichomonaden im Verdauungsapparat verbreitet waren, wurde das Tier geschlachtet und jeder Darmabschnitt im Nativpräparat und auch kulturell auf Trichomonaden geprüft.

Eine Kultur aus den Belägen am harten Gaumen war negativ.

Mikroskopisch wurden Trichomonaden nachgewiesen im Anfangsteil des Schlundes. Sehr zahlreich fanden sich Trichomonaden im Kropf, ebenso im Schlundabschnitt zwischen Kropf und Drüsenmagen.

Auch der Anfangsteil des Drüsenmagens ließ Trichomonaden im Nativpräparat erkennen.

Negativ war eine Schleimprobe aus dem distalen Drittel des Drüsenmagens, nicht nur mikroskopisch, sondern auch kulturell.

In der angelegten Kultur vom Muskelmagen waren Trichomonaden ebenfalls nicht nachweisbar.

Trichomonaden waren bei diesem Tier vorhanden: Auf der kutanen Schleimhaut des Verdauungsapparates, einschließlich Anfangsteil des Drüsenmagens.

Soweit es schon mikroskopisch festzustellen war, schien es sich um dieselbe Trichomonas-Art zu handeln; trotzdem wurde noch je eine Kultur aus dem Kropf und aus dem Anfangsteil des Drüsenmagens weitergezüchtet. Durch tägliches Überimpfen und Zusatz von einigen Tropfen Trypaflavin (1 : 10 000) zum Nährboden, wurde versucht, die Begleitbakterien wenigstens soweit zurückzudämmen, daß eine Färbung möglich wurde und die Identität der Stämme morphologisch nachgewiesen werden konnte.

Es handelte sich um eine viergeißelige Trichomonas-Art mit undulierender Membran und aus dem Körper frei herausragendem Achsenstab.

3. Fall: Altes, hochgradig abgemagertes, rebhuhnfarbenes Italiener-Huhn zeigte nur geringgradigen serösen Nasenausfluß.

Die nach dem Tode aus dem Kropf und dem unteren Schlundabschnitt angelegte Kultur war positiv. Negativ war die Kultur aus Drüsenmagen und Muskelmagen.

Diese Kultur weiterzuzüchten, gelang nur 4 Tage. Die Trichomonaden wurden von den Begleitbakterien überwuchert, da schon die Anfangskultur ziemlich schwach war.

Abgesehen davon, daß 4 Geißeln mikroskopisch nicht einwandfrei nachgewiesen werden konnten, handelte es sich morphologisch doch wohl um dieselbe Art wie bei Fall 2.

Fälle 4 bis 7: Diese Hühner wurden in einer Stallabteilung einjähriger Leghornhennen einer Vermehrungszucht gefunden. Alle Tiere waren durchweg hochgradig an Schnupfen erkrankt. Bei der Untersuchung zeigten einige teils serösen und dünnflüssigen, teils mehr dickflüssigen, mit Fibrinflocken vermischten Nasenausfluß, der manchmal schmutzig-grau verfärbt war. Beim Öffnen des Schnabels war die Schleimhaut zwischen den Gaumenspalten öfters mit schleimigem Sekret bedeckt, wodurch die Tiere wesentlich bei der Atmung behindert waren; sie atmeten mit geöffnetem Schnabel. Bei mehreren Tieren ließen sich schleimige, fibrinöse Beläge von der Schleimhaut der Schnabelhöhle abheben.

War bei einigen Tieren auch spontan kein Nasenausfluß festzustellen, so ließ sich doch durch Druck mit dem Daumen auf die Nasenöffnungen Sekret aus der Nasenhöhle hervordrücken.

Der mikroskopische Befund der Schleimhautabstriche war überall negativ. Kulturell konnten bei 4 Tieren Trichomonaden nachgewiesen werden.

Zunächst wurde versucht, sämtliche 4 Kulturen weiterzuzüchten. Es gelang jedoch nur bei 2 Stämmen, da die beiden anderen nur sehr schwach angegangen waren.

Obwohl die ganze untersuchte Stallabteilung fast ohne Ausnahme diese schwerwiegenden Krankheitserscheinungen aufwies, konnten nur viermal Trichomonaden festgestellt werden. Unterschiede im Krankheitsverlauf wurden nicht beobachtet.

Tabelle II

Vorkommen von Trichomonaden bei erkrankten Tieren.

Lokalisation	Zahl der untersuchten Tiere	positive Tiere	negative Tiere	positive Tiere in %
a) Schlund und Kropf	225	8	217	3,55
b) Obere Luftwege	20	3	17	15,00

In diesem Zusammenhang sei hier noch eines besonders gelagerten Falles gedacht, bei dem Schnupfen nicht bestand, sondern eine hochgradige Tuberkulose des Darmes und der Leber vorlag. Trotzdem wurden aber auf der gesunden Schleimhaut des Rachens Trichomonaden gefunden. Es handelte sich um ein altes Bauernhuhn, das keinen Schnupfen und keine Veränderungen auf der Mund- und Rachenschleimhaut zeigte. Das Tier wurde 14 Tage in einem freien Auslauf gehalten und wiederholt untersucht. Schon in den Rachen-Abstrichen waren Trichomonaden zu erkennen.

Das Tier verendete aber plötzlich interkurrent infolge innerer Verblutung (Leberruptur).

Bei der Zerlegung wurde hochgradige Darm- und Lebertuberkulose festgestellt. Trichomonaden konnten auch kulturell nicht mehr ermittelt werden, da das Tier erst 24 Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kam.

Zusammenfassung: *Unter den 225 an Schnupfen erkrankten Tieren konnten bei 7 Tieren im Rachen bzw. im oberen Verdauungsapparat Trichomonaden nachgewiesen werden* (Tabelle II).

Ein Tier zeigte an der Nasen- und Schnabelschleimhaut keine Veränderungen, war aber hochgradig an Tuberkulose erkrankt.

b) Vorkommen von Trichomonaden in den oberen Luftwegen.

Von den 7 an Schnupfen erkrankten und mit Trichomonaden im Rachen behafteten Tieren wurde jeweils auch ein Abstrich aus dem Exsudat der Nasenöffnungen mikroskopisch untersucht. Nur bei Fall 2 (siehe oben) konnten — zwar nicht unmittelbar mikroskopisch, aber auf kulturellem Wege — aus dem Nasenhöhlenexsudat des lebenden Tieres Trichomonaden festgestellt werden. Bei diesem Tiere fanden sich nach der Schlachtung und vorsichtigen Zerlegung auch Trichomonaden in den flockig-schleimigen Belägen der Luftröhre. Bei Fall 1 und 3, die ebenfalls geschlachtet wurden, konnten nach vorsichtiger Öffnung der Nasenhöhlen Trichomonaden auf kulturellem Wege erwiesen werden, obwohl dies bei den lebenden Tieren nicht gelungen ist (Tabelle II). Schleimproben aus der Luftröhre und Lunge waren negativ.

Außerdem kamen 17 hochgradig an Schnupfen erkrankte Tiere mit Anschwellung des Kopfes, sogen. Eulenkopf, zur Sektion. Die Ursache dieser teils beiderseitigen mitunter auch nur einseitigen Anschwellung des Kopfes war die Stauung des durch Verklebung am Abfluß aus den Nasenlöchern verhinderten Sekretes, das so in die Infraorbitalhöhle und schließlich auch durch den Tränenkanal in die Augenhöhle gepreßt wurde.

In keinem dieser Fälle ist es gelungen, — auch auf kulturellem Wege nicht — Trichomonaden in diesen Sekretmassen nachzuweisen.

c) Vorkommen von Trichomonaden bei Tieren mit Darmentzündungen.

a) Vorkommen von Trichomonaden bei erwachsenen Tieren.

An erwachsenen Tieren wurden 55 Hühner im Alter von 1 bis 3 Jahren, meistens aus Zuchtbetrieben stammend, untersucht. Bei 30 dieser unmittelbar nach dem Tode mikroskopisch und kulturell untersuchten Tiere ließen sich in den erkrankten Darmabschnitten Trichomonaden nachweisen (Tabelle III).

Darunter zeigten 14 Tiere nur einen leichten Darmkatarrh mit diffuser, leichter Rötung des Darmes. Bei 3 Tieren wurden Trichomonaden schon im frischen Ausstrich gefunden.

Unter 5 Tieren mit diphtheroider Darmentzündung konnten bei 4 Tieren Darmtrichomonaden nachgewiesen werden.

6 Junghennen -- Jahrgang 1936 — zeigten bei der Sektion vergrößerte Blinddärme; die Darmwand selbst war stark verdickt. Die Diagnose „chronische Form der Kokzidiose" wurde durch den mikroskopischen Nachweis zahlreicher Oozysten im Darminhalt gesichert. Bei 2 Tieren waren Trichomonaden schon im Abstrich zu erkennen.

Von 3 Tieren mit Darmtuberkulose war ein Tier gleichzeitig mit Trichomonaden im Darm behaftet. Dieses Tier zeigte im Gegensatz zu den beiden anderen stark käsige Beläge in der Darmschleimhaut.

Die übrigen trichomonaden-positiven Tiere waren mit Darmparasiten behaftet, darunter 3 mit Haarwürmern und 2 mit Spulwürmern in großer Zahl.

Tabelle III

Vorkommen von Trichomonaden bei erwachsenen Tieren mit Darmerkrankungen.

Art der Erkrankung	Zahl der untersuchten Tiere	positive Tiere	negative Tiere	positive Tiere in %
1. Darmkatarrh	24	14	10	58,3
2. fibrinös-diphtheroide Darmentzündung	5	4	1	80
3. Chron. Kokzidiose	12	8	4	66,6
4. Darmtuberkulose	3	1	2	33,3
5. Wurmbefall	11	5	6	45,5
insgesamt	55	32	23	58,0

Die Ergebnisse der Untersuchung erwachsener Tiere auf Trichomonaden sind in Tabelle III zusammengefaßt. Daraus ergibt sich die Tatsache, daß Trichomonaden hauptsächlich bei chronischen, fibrinös-diphtheroiden Darmentzündungen und chronisch-geschwürig verlaufender Kokzidiose angetroffen werden.

Vergleicht man aber weiterhin die Zahl der trichomonadenpositiven Tiere, die mit einer Darmentzündung behaftet sind, mit den gesunden untersuchten Tieren (50 % positive Ergebnisse), so ergibt sich nur ein unbedeutender Unterschied, so daß auf die pathogene Wirkung bzw. Mitbeteiligung der Trichomonaden bei Darmentzündungen weitgehende Schlüsse nicht gezogen werden können.

Immerhin bleibt die Tatsache bestehen, daß die Trichomonaden in fibrinös-diphtheroiden Entzündungsprozessen des Darmes sehr häufig anzutreffen sind. Wieweit sie jedoch hierbei in den diphtheroiden Massen nur günstige Lebensbedingungen finden oder den Krankheitsverlauf ungünstig beeinflussen können, muß dahingestellt bleiben.

β) Vorkommen von Trichomonaden bei *Jungtieren.*

Unter 40 lebend eingesandten Kücken (bis 4 Wochen alt), die sämtlich an Kückenruhr erkrankt waren, konnten Trichomonaden in den Blinddärmen lediglich bei 5 Tieren kulturell festgestellt werden; obwohl bei allen Tieren eine katarrhalische Darmentzündung vorlag (Tabelle IV).

Von 70 über 4 Wochen alten, an *Kokzidiose* erkrankten Jungtieren, wurden 17mal Trichomonaden festgestellt. In den meisten Fällen lag eine hämorrhagische Blinddarmentzündung, in einigen wenigen Fällen auch nur eine katarrhalische Darmentzündung vor.

Unter weiteren 8 halbwüchsigen Tieren mit *Haarwurmbefall* konnten dreimal schon im Abstrich Trichomonaden gefunden werden; während das mikroskopische und kulturelle Untersuchungsergebnis der übrigen Tiere negativ verlief.

Aus der in der Tabelle IV zusammengestellten Statistik über das Vorkommen von Trichomonaden bei Jungtieren mit spezifischer Darmentzündung ist zu folgern, daß es ebensowenig wie bei Alttieren gelang, Trichomonaden als vermutliche alleinige Ursache einer Darmentzündung festzustellen. Immer standen die beobachteten Darmentzündungszustände mit anderen Ursachen (Kückenruhr, Kokzidiose und Wurmbefall) in Zusammenhang. Auch ließ sich eine besonders starke Beteiligung der Trichomonaden bei den verschiedenen Darmentzündungen nicht nachweisen.

Tabelle IV

Vorkommen von Trichomonaden bei Jungtieren mit Darmerkrankungen.

Art der Erkrankung	Zahl der untersuchten Tiere	positive Tiere	negative Tiere	positive Tiere in %
1. Kückenruhr	40	5	35	12,5
2. Kokzidiose	70	17	53	24,3
3. Haarwurmbefall	8	3	5	37,5
insgesamt	118	25	93	21,0

IV. *Züchtung der Trichomonaden.*

Zur Züchtung der Tauben-Trichomonaden wurde neben einer Reihe anderer Nährböden der Locke-Ei-Serum-Nährboden (L. E. S.-Nährboden) nach Boeck und Drbohlav (1925) verwendet. Die später von Bos (1935) und Schaaf und Schmitt (1937) gewonnenen Reinkulturen von Trichomonas columbae wurden auf dem gleichen Nährboden gezüchtet.

Zur Züchtung der bei Hühnern und Enten vorgefundenen Trichomonaden wurden neben dem L. E. S.-Nährboden eine Reihe anderer Nährböden benutzt, die sich teilweise ebenfalls durch eine gute Vermehrungsfähigkeit und längere Lebensdauer der Trichomonaden auszeichneten.

Ein Wachstum der Trichomonaden gelang sowohl in Medien mit stark alkalischer ($P_H = 8{,}4$) als auch mit stark saurer Reaktion ($P_H = 5{,}4$). Die beste Entwicklungsmöglichkeit der Trichomonaden lag jedoch bei einem P_H-Wert zwischen 7,2 und 7,6.

Eine Überprüfung der angewandten Nährböden hinsichtlich des Wachstums der stets bakteriell verunreinigten Trichomonaden von Hühnern und Enten ergab folgendes zusammenfassendes Ergebnis:

1. Ein sehr gutes Wachstum der Trichomonaden wurde stets mit einem *modifizierten* L. E. S.-Nährboden nach Boeck und Drbohlav mit übergeschichtetem Gemenge von physiologischer Kochsalzlösung und Hühnereiweiß (10:1) erzielt. So-

wohl für den kulturellen Nachweis als auch für die Weiterzüchtung der Trichomonaden-Stämme hat sich dieser Nährboden ausgezeichnet bewährt.

2. Der *modifizierte Nährboden* nach Dobell und Laidlaw (schräg erstarrtes Pferdeserum mit aufgeschichteter physiologischer Kochsalzlösung und Hühnereiweiß im Mischungs-Verhältnis 10:1), der sich für die Züchtung der menschlichen Trichomonaden und auch bei der Ruhramöbenzüchtung nach Wagner und Hees (1935) bewährt hat, erbrachte ebenfalls recht gutes Wachstum der Trichomonaden; jedoch erreichte er nach wiederholten vergleichenden Prüfungen die Güte des L. E. S.-Nährbodens nicht.

3. Gutes Wachstum und lebhafte Beweglichkeit zeigten die Trichomonaden auch in *Kochblutbouillon* (gekochte Blutbouillon mit überschichtetem flüssigem Paraffin) nach Witte, also unter anaëroben Bedingungen. Das Wachstum der Begleitbakterien wurde so, wenigstens teilweise, unterdrückt. Auf diese Weise wurde das Wachstum der Trichomonaden durch das Überhandnehmen der Bakterien nicht so stark gehemmt, wie dies in anderen Nährböden, z. B. in Blutbouillon, der Fall war.

4. Mäßiges Wachstum zeigten die Trichomonaden in den *modifizierten L. E. S.-Nährböden mit aufgeschichteter physiologischer Kochsalzlösung oder aufgeschichtetem unverdünntem Hühnereiweiß.*

5. Schlechtes Wachstum ergab regelmäßig die Züchtung auf *dem modifizierten L. E. S.-Nährboden mit überschichtetem Pferdeserum.* Schon nach wenigen Kulturpassagen waren Trichomonaden nicht mehr nachweisbar.

6. Dasselbe ungünstige Ergebnis erbrachte auch die Züchtung auf *Schräg-Agar mit überschichtetem Gemisch von Hühnereiweiß und 0,9%iger Kochsalzlösung* (1:10).

7. Die Züchtung in *Blutbouillon* (Gemisch von 10 ccm Bouillon und 1 ccm defribriniertem Pferdeblut) nach Witte (1933) war unsicher. Jedenfalls konnten Trichomonaden nach der 2. und 3. Passage in der Kultur nicht mehr nachgewiesen werden. Diese Feststellung scheint in Widerspruch zu stehen mit den Angaben von Witte (1933) und von Schaaf und Schmitt (1937). Sie läßt sich jedoch ohne weiteres damit erklären, daß es sich bei

den Versuchen dieser Autoren um Reinkulturen von Geschlechtstrichomonaden des Rindes bzw. Trichomonas columbae handelte, nicht aber — wie bei meinen Versuchen — um Hühnertrichomonaden mit oft starker bakterieller Verunreinigung.

8. Auf dem *Petragnani-Nährboden* mit Kochsalz-Eiweißgemisch war das Züchtungsergebnis stets außerordentlich schlecht, ja meistens erfolglos. Selbst bei reichlichem Überimpfen einer stark positiven Kultur konnten Trichomonaden nach 48 Stunden überhaupt nicht mehr oder höchstens noch ganz vereinzelt nachgewiesen werden.
9. Der für die Züchtung von Darmflagellaten von Maciel*) (1927) benutzte *Serumnährboden* versagte völlig für die Züchtung der Rachentrichomonaden. Auch zeigte er sich für die Züchtung der Darmtrichomonaden nach wiederholten Versuchen wenig zuverlässig, insofern als er zu schlechtes, z. T. überhaupt kein Wachstum der Trichomonaden erkennen ließ.

Da bei der Züchtung der Trichomonaden aus dem Tierkörper stets Bakterien vorhanden waren, so war es die Aufgabe für verunreinigte Kulturen, geeignete Nährböden zu prüfen, die besonders für den kulturellen diagnostischen Nachweis von praktischer Bedeutung waren.

Durch das rasche und starke Wuchern der Bakterien, z. B. in Blutbouillon, wurde das Wachstum der Trichomonaden unterdrückt, so daß sich dieser Nährboden für den diagnostischen Nachweis der Trichomonaden nicht eignete.

Unter anaëroben Verhältnissen, z. B. in Kochblutbouillon mit überschichtetem Paraffin, ließ sich das Bakterienwachstum bis zu einem gewissen Grade eindämmen.

Durch Zusatz von bakterizid-wirkendem Hühnereiweiß wurde das Wachstum der Trichomonaden ebenfalls gefördert. Allerdings ließen sich Trichomonaden in reinem Hühnereiweiß als Nährboden nicht züchten, doch wurde das Trichomonadenwachstum stark begünstigt durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung (1:10) und Aufschichtung auf den schräg erstarrten Eier-Nährboden. Dieser Nährboden gewährleistete stets die beste Entwicklungsmöglichkeit der Trichomonaden, ohne daß gleichzeitig die Bakterien übermäßig wucherten.

*) Die Zusammensetzung des Nährbodens ist in Nöller's Handbuch der pathogenen Protozoen (1931), 12. Lieferung, nachzulesen.

Schließlich wurden zur Hemmung der Bakterienvermehrung mit mehr oder weniger gutem Erfolg bakterizid wirkende Farbstoffe, wie Trypaflavin, Krystallviolett und Malachitgrün, dem Nährboden zugesetzt. Einerseits wurde hierdurch das Wachstum der Bakterien unterdrückt, andererseits wurden aber auch die Trichomonaden in ihrer Entwicklung und Vermehrung wesentlich gehemmt. Jedenfalls gelang es auf diesem Wege trotz umfangreicher Bemühungen nicht, zu Reinkulturen zu gelangen.

Zusammenfassung.

Für den kulturellen diagnostischen Nachweis der Trichomonaden aus tierischen, stets bakteriell verunreinigten Organen ist der modifizierte L. E. S.-Nährboden mit übergeschichtetem Gemisch von physiologischer Kochsalzlösung mit Eiweiß (10:1) als der geeignetste anzusehen.

Gute Erfolge erbrachte auch der modifizierte Nährboden nach Dobell und Laidlaw.

Umfangreiche Versuche, durch Abänderung des Kulturverfahrens Reinkulturen zu gewinnen, sind nicht gelungen, weder durch streng anaërobe Wachstumsbedingungen, noch durch Züchtung in stark sauren oder stark alkalischen Medien, oder durch Zusatz von bakterizid wirkenden chemischen Mitteln, oder durch Züchtung in konzentriertem oder gering verdünntem bakterizid wirkendem Hühnereiweiß.

Immerhin ließ sich das Wachstum der Bakterien zugunsten des Trichomonadenwachstums durch verschiedene der oben angegebenen Methoden stark eindämmen, was für den kulturell-diagnostischen Nachweis und das Studium der Morphologie (färberische Darstellung) bedeutungsvoll war.

Nachdem es nicht gelungen war, durch verschiedene Züchtungsarten Reinkulturen zu bekommen, wurde dies auf dem Umweg über den Tierversuch versucht.

Zu diesem Zweck wurden 3 ccm des flüssigen Nährbodenanteils einer stark positiven Kultur einem Junghahn teils subkutan, teils intramuskulär in die linke Unterbrust injiziert. Das Tier verendete schon nach 2 Tagen. An der Injektionsstelle bestand eine etwa markstückgroße Anschwellung der Haut. Nach Durchschneiden der Haut, die selbst nicht verfärbt war, lag die stark durchfeuchtete, in der Umgebung der Injektionsstelle mit serös-eitrigen Massen durchtränkte Unter-

haut frei. Dieses Ödem zog sich über die Medianlinie hinweg auf die rechte Unterbrust und nach hinten bis in die Umgebung der Kloake. Auch die Muskulatur war bis auf das Brustbein stark durchfeuchtet und grau-trübe verfärbt. Von dieser Muskulatur wurden mit sterilen Instrumenten kleine Stückchen in L.E.S.-Kulturen verbracht, nachdem zuvor Trichomonaden nicht nachweisbar waren. Die Kultur wies nach 2 Tagen nur wenige und schwach bewegliche Trichomonaden auf, daneben aber im gefärbten Präparat teils grampositive, teils gramnegative Stäbchen in großer Zahl.

Nochmals wurden 10 Junghähne, teils subkutan, teils intramuskulär, mit bakteriell verunreinigten Trichomonaden-Kulturen infiziert. 3 Tiere starben schon innerhalb 24 Stunden nach der Injektion an Septikämie. Ein Tier war nach 3 Tagen tot. Nach Abziehen der Haut, die keine Veränderung aufwies, kam in der Unterhaut ein etwa zweimarkstückgroßer Nekrose-Herd zum Vorschein, der sich in die Brustmuskulatur mit miliaren bis erbsengroßen nekrotischen Herdchen ausdehnte. Bei der Öffnung der Bauchfellsäcke war eine starke Bauchfellentzündung festzustellen. Das Exsudat der Leibeshöhle war mikroskopisch negativ. Die kulturelle Prüfung lieferte jedoch ebenso wie die des Herzblutes und der nekrotischen Muskulatur nach 48stündiger Bebrütung der Kulturen ein positives Ergebnis; aber die Kulturen waren bakteriell stark verunreinigt. Die aus der Leber angelegte Kultur auf Trichomonaden verlief negativ.

Im Verlauf von 10 Tagen verendeten die übrigen Tiere. Immer war eine Nekrose der Muskulatur an der Injektionsstelle vorhanden. Trichomonaden konnten kulturell in allen Fällen nur in gleichzeitiger Verunreinigung mit Bakterien nachgewiesen werden.

Als Gesamtergebnis der mit verunreinigten Trichomonadenkulturen an Versuchshähnen angestellten Impfversuche ist festzustellen, daß es auch auf diese Weise nicht gelang, Reinkulturen von Trichomonaden zu erhalten. Gleichzeitig mit den Trichomonaden waren auch Bakterien in den inneren Organen der verendeten Tiere vorhanden.

V. *Morphologie der vorgefundenen Trichomonaden.*

Die in den einzelnen Organabschnitten vorgefundenen Trichomonaden wurden jeweils einer eingehenden morphologischen Untersuchung unterzogen, über die hier berichtet werden soll.

1. Morphologie der Rachentrichomonaden des Huhnes (Abb. 1—3).

a) Prüfung im Dunkelfeld.

Gestalt. Ein Tropfen der positiven Kultur wurde auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckglas bedeckt und im Dunkelfeld besichtigt. Zunächst ließen sich nur ovale bis rundliche, lebhaft bewegliche Geißeltierchen erkennen. Erst durch anhaltende intensive

Lichteinwirkung wurden die Bewegungen etwas langsamer, so daß die Form und Gestalt der Flagellaten deutlicher zu erkennen war. Die Trichomonaden hatten längsovale, z. T. auch rübenförmige oder eiförmige Gestalt. Nach einigen Stunden ließen sie in ihrer Beweglichkeit stark nach und rundeten sich ab.

Bewegung und Bewegungsapparat. Am Vorderende waren 4 Geißeln, die peitschenartige Bewegungen ausführten, wie Ruder an den Körper schlugen und diesen ruckartig bewegten. Auf einer Seite war eine undulierende Membran durch wellenförmige, nach hinten verlaufende Bewegung deutlich zu erkennen. Besonders bei der Betrachtung im Dunkelfeld war diese Membran, die nur bis zu Beginn des hinteren Körperdrittels, nie aber bis zum hinteren Körperende reichte, recht deutlich sichtbar. Daß die undulierende Membran bald rechts, bald links sichtbar war, ließ darauf schließen, daß sich die Trichomonaden um ihre Längsachse drehend nach vorwärts bewegten. Ein verlängerter Achsenstab, der nach hinten über den Körper hinausragte, war ebenfalls deutlich zu sehen. An ihm klebten oft Bakterien fest. Dieser diente mitunter zur Verankerung der in der Flüssigkeit umherschwimmenden Flagellaten an festen Körperchen.

b) Prüfung im gefärbten Präparat.

Über die Technik der färberischen Darstellung wurde bereits oben berichtet. Es sei an dieser Stelle nur noch kurz auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die die färberische Darstellung der Trichomonaden mit sich bringt. Bei einfachen Färbeverfahren nach Gram oder mit Methylenblau war morphologisch nichts zu erkennen. Aber auch die Spezialfärbungen nach N ö l l e r und H e i d e n h a i n brachten trotz Anfertigung einer großen Anzahl von Präparaten nur wenige für das morphologische Studium brauchbare Einzelheiten zur Darstellung. Selbst in ein und demselben Deckglasausstrich wurden wiederholt neben gut gelungenen Trichomonaden vollständig unbrauchbare gefunden. Außerdem bereiteten die Bakterien, die in den gefärbten Präparaten oft die Struktur verdeckten, bei der färberischen Darstellung größte Schwierigkeiten, da das Ausgangsmaterial stets bakteriell stark verunreinigt war.

Größenmessung. Zur Bestimmung der Größenverhältnisse wurden 50 der nach N ö l l e r mit dem Giemsafarbstoff gefärbten Präparate gemessen. Die Länge lag zwischen 5,5 und 13 μ (durchschnittlich 9,2 μ) und die Breite zwischen 3,5 und 8,5 μ (durchschnittlich 6,0 μ).

Es sei auch bemerkt, daß leicht durch die Fixierung Formveränderungen und somit Fehlerquellen bezüglich der natürlichen Gestalt und Größe entstehen können.

Innenstruktur. Alle 4 Geißeln entspringen von einem Basalkörper, dem Blepharoblasten, und sind wiederholt, klar und deutlich voneinander getrennt, zur Darstellung gebracht worden. Es handelte sich nicht etwa bei der 4. Geißel um eine abgelöste undulierende Membran.

Von dem gleichen Basalkörper entspringt auch die Randgeißel einer undulierenden Membran, welche spiralig dem Körper entlang verläuft, und etwa bis zum Beginn des hinteren Drittels des Körpers reicht. Die wiederholten Beobachtungen im Dunkelfeld wurden durch die Färbung eindeutig dahingehend bestätigt, daß die undulierende Membran und somit auch ihre Randgeißel nicht bis zum hinteren Körperende reicht, oder gar als Schleppgeißel den Körper nach hinten überragt.

Am Körper selbst dient der undulierenden Membran eine feine Basalfibrille als Grundlage, welche ebenfalls vom Basalkörper ausgeht, aber nicht ganz bis zum Ende der undulierenden Membran reicht.

Bei den meisten gefärbten Exemplaren läßt sich der dünne und elastische, nach hinten aus dem Körper hervorragende „verlängerte Achsenstab" nur bis etwa zur Hälfte in das Körperinnere verfolgen. Relativ häufig ist der Achsenstab bis zum Kern, der groß und rundlich ziemlich im Vorderende liegt, zu sehen. Außerdem ist es bei einigen gefärbten Exemplaren gelungen, den Achsenstab, am Kern vorbeiziehend, bis zum gleichen Basalkörper zu verfolgen, an dem auch die Geißeln und die undulierende Membran ihren Ursprung nehmen. Der Achsenstab ragt aus dem Hinterende ein verschieden langes Stück (2 bis 5 μ) heraus.

Die Ansicht, daß der Achsenstab vom Kern ausgeht, wird von Hartmann vertreten, während Dobell und auch Nöller annehmen, daß er mit dem Basalkörper in Verbindung steht. Nöller schreibt von besonders gut gefärbten Präparaten von Trichomonas intestinalis beim Menschen: „es lief der Achsenstab stark gefärbt ganz deutlich neben dem ebenfalls klar gefärbten Kern vorbei zu dem Basalkorn hin". Meine Untersuchungen bestätigen mithin die Feststellungen von Dobell und von Nöller.

Große Schwierigkeiten bereiteten stets — wie schon erwähnt — die Bakterien bei der Erkennung der Innenstruktur, so daß in

manchen Ausstrichen nur wenige in den Einzelheiten gut dargestellte Trichomonaden zu sehen waren. Teilweise wurden die Trichomonaden von Bakterien überdeckt.

Daneben sind fast immer bei gut gefärbten Exemplaren mehrere, manchmal nahe beieinander liegende Nahrungsvakuolen im Innern zu erkennen, in denen Bakterien liegen, die sich im Gegensatz zu den auf der Außenfläche liegenden durch ihre schwächere Färbbarkeit und ebenso auch durch ihre Lagerung in gleicher Höhe mit der betreffenden Vakuole auszeichnen.

Ein Cytostom nachzuweisen, wie es von v. Prowazek und auch von Doflein bei anderen Trichomonas-Arten beschrieben ist, war nicht möglich.

Zusammenfassung.

Die aus dem Rachen 4 verschiedener Hühner gezüchteten Trichomonaden weisen bei der Färbung nach Nöller und Heidenhain die gleichen morphologischen Eigenschaften auf (Abb. 1 bis 3). Sie besitzen 4 freie Vordergeißeln, ausgehend von einem Basalkörper, eine undulierende Membran mit Randgeißel, die aber das Hinterende des Körpers nicht erreicht, sowie einen Achsenstab, der, ausgehend vom Basalkörper — am Kern vorbei — den ganzen Körper durchzieht und nach hinten als „verlängerter Achsenstab" den Körper überragt. Ein Cytostom konnte bei keiner der beiden Färbemethoden nachgewiesen werden.

Wie weit die im Rachen und Schlund von Hühnern nachgewiesenen Trichomonaden mit der von Yakimoff ohne nähere Einzelheiten erwähnten Trichomonaden-Art identisch sind, läßt sich nicht entscheiden. Am meisten stimmt diese Trichomonas-Art mit der von Martin und Robertson beschriebenen Tetratrichomonas gallinarum überein.

2. Morphologie der Darmtrichomonaden des Huhnes (Abb. 4).

a) Prüfung im Dunkelfeld.

Die in den Blinddärmen von Hühnern vorgefundenen Trichomonaden haben längsovale, z. T. auch mehr spindelförmige Gestalt. Sehr deutlich schon bei Verwendung des Trockensystems, ganz besonders aber im Dunkelfeld, ist eine undulierende Membran mit kräftiger Randgeißel zu erkennen, die als frei endende Schleppgeißel den Körper nach hinten überragt. Im Dunkelfeld sind außerdem

ganz einwandfrei drei freie Vordergeißeln zu erkennen. Auch diese Trichomonaden-Art weist, wie die Rachentrichomonade des Huhnes, einen verlängerten nach hinten aus dem Körper herausragenden Achsenstab auf.

b) Prüfung des gefärbten Ausstriches.

Zunächst wurde die Züchtung dieser Darmtrichomonaden für die spätere Färbung auf dem Serum-Kochsalz-Nährboden nach Maciel versucht. Jedoch eignete sich zur Züchtung und Anreicherung dieser Trichomonaden ebenfalls der modifizierte L.E.S.-Nährboden unter Zusatz von einigen Tropfen Trypaflavin (1:10000) am besten. Durch tägliches Überimpfen ist es gelungen, die Bakterien wenigstens soweit zurückzudämmen, daß eine Färbung möglich wurde. Weit bessere Ergebnisse erbrachte hier die Nöller'sche Färbung als die Methode nach Heidenhain im Gegensatz zu den Rachentrichomonaden, bei denen sich die zweite Methode ebenso gut bewährt hat wie die erste.

Im gefärbten Ausstrich sind neben Trichomonaden mit drei freien Vordergeißeln auch teilweise solche mit nur zwei Vordergeißeln zu sehen. Bei den letzteren dürfte es sich aber auch um dreigeißelige Flagellaten handeln, bei denen die dritte Geißel wegen der schwierigen gleichzeitigen Darstellung aller Geißeln besonders aus bakteriell verunreinigtem Ausgangsmaterial nicht färberisch dargestellt werden konnte. Ich komme zu dieser Annahme auch aus dem Grunde, weil die übrigen morphologischen Merkmale übereinstimmen.

Kräftig gefärbt tritt die Randgeißel der undulierenden Membran, die nach hinten in eine freie Schleppgeißel übergeht, in Erscheinung. Der Achsenstab ist bei einigen gut gefärbten Trichomonaden in das Körperinnere zu verfolgen, zieht ebenfalls am Kern vorbei und reicht bis zum Basalkörper. Die Basalfibrille und ganz besonders die Randfibrille der undulierenden Membran treten im Vergleich zu den Rachentrichomonaden färberisch kräftiger hervor. Das Plasma besitzt ebenfalls eine Anzahl nahe nebeneinander liegender Nahrungsvakuolen, in denen sich Bakterien einwandfrei färberisch darstellen lassen, als Ausdruck der bakteriophagen Eigenschaft dieser Trichomonaden.

Größenverhältnis. Die Größe der einzelnen Exemplare schwankt sehr, ebenso ist das Verhältnis von Länge zu Breite sehr unterschiedlich. Trichomonaden aus jungen Kulturen waren gewöhnlich länger,

ältere dagegen breiter und plumper und besaßen auch größere Nahrungsvakuolen.

Die Länge von 50 Trichomonaden in den nach N ö l l e r gefärbten Ausstrichen lag zwischen 5,1 und 10,2 μ (durchschnittlich 7,3 μ), die Breite zwischen 3,4 und 5,2 μ (durchschnittlich 4,3 μ).

Ein Cytostom war färberisch nicht nachweisbar.

Zusammenfassung.

Die Trichomonaden von 5 aus den Blinddärmen verschiedener gesunder und kranker Hühner angelegten Trichomonaden-Kulturen weisen bei der Färbung nach N ö l l e r folgende morphologische Eigenschaften auf (Abb. 4): Sie verfügen über drei freie Vordergeißeln, ausgehend von einem Basalkörper, von dem außerdem eine kräftige undulierende Membran ihren Ursprung nimmt. Die Randfibrille der undulierenden Membran umzieht den ganzen Körper bis an das Hinterende und endet mit einer kräftigen nach hinten frei auslaufenden Schleppgeißel.

Eine genauere Differenzierung der Innenstruktur ist bei beiden Trichomonas-Arten nicht durchzuführen, weil fast stets im Plasma Nahrungsvakuolen von verschiedener Zahl und Größe mit Einschlüssen von Bakterien zu beobachten sind, die morphologische Einzelheiten überdecken. Hinsichtlich ihrer Größe und Gestalt stimmt diese Trichomonas-Art mit der von M a r t i n und R o b e r t s o n beschriebenen T r i c h o m o n a s E b e r t h i überein.

Vergleich der Rachen- und Darmtrichomonaden des Huhnes.

Grundlegend ist die Feststellung, daß morphologisch ein deutlicher Unterschied besteht zwischen der im Rachen gefundenen Trichomonas-Art und den Darmtrichomonaden des Huhnes. Erwähnt sei hier besonders, daß bei mehreren Tieren gleichzeitig Rachen- und Darmtrichomonaden gefunden wurden, welche die hier beschriebenen unterschiedlichen Merkmale aufweisen. Niemals ist es mir gelungen, die im Rachen vorkommende Trichomonas-Art im Darm nachzuweisen und umgekehrt Darmtrichomonaden im Rachen. Obwohl jede positive Kultur aus dem Darm im Dunkelfeld geprüft wurde, konnte ich bisher nie eine viergeißelige Trichomonas-Art finden; stets waren nur 3 Geißeln und eine durchgehende undulierende Membran zu erkennen. Da die Lebensbedingungen auf kutaner und Darmschleimhaut vollkommen verschieden sind, ist es auch erklärlich, daß jede Trichomonas-Art streng spezifisch an ihren Bereich gebunden ist.

Die morphologische Differenzierung stützt sich auf Unterschiede zwischen diesen beiden Trichomonas-Arten hinsichtlich der Größe und Gestalt, besonders aber hinsichtlich der Geißelzahl und der Länge der undulierenden Membran, die selbst, wenn auch das eine oder andere Merkmal an einer einzelnen Trichomonade nicht deutlich hervortrat, doch auf Grund der übrigen morphologischen Eigenschaften ihre Zugehörigkeit zu der einen oder anderen Trichomonas-Art kennzeichnen.

Es ist auch sehr wohl verständlich, daß die Rachen- und Darmtrichomonaden eine einheitliche Trichomonaden-Art nicht darstellen, wenn man sich die den Trichomonaden gebotenen gänzlich verschiedenen Lebensbedingungen auf kutaner und Darmschleimhaut vergegenwärtigt. Wenn demgegenüber neuerdings die Neigung hervortritt, die bei einer Tierart in verschiedenen Organen oder Organabschnitten vorkommenden Trichomonaden als eine einheitliche Art aufzufassen, die unter Umständen auf dem Blutwege oder durch Kontakt (Darm- und Geschlechtstrichomonade des Rindes) von einem Organ in das andere gelangen, so darf doch nur nach vorangegangener genauer Prüfung der morphologischen und biologischen Eigenschaften die Identität als erwiesen betrachtet werden.

Immerhin zeigen meine eigenen Infektionsversuche (subkutane und intramuskuläre Impfung), daß die Trichomonaden auch ins Blut gelangen und sich dort lebensfähig erhalten können. Dies zeigt, daß Trichomonaden nach besonders massiver künstlicher Infektion bei besonderer Krankheitsdisposition des Versuchstieres, ähnlich wie bei einer bakteriellen Sepsis, im Körper generalisiert auftreten können. Ähnliche Ergebnisse brachten auch die Versuche anderer Autoren (Bos, Schaaf und Schmitt).

Wieweit ein solches Vorkommnis auch unter natürlichen Verhältnissen eintreten kann, muß noch dahingestellt bleiben. Jedenfalls ist der Nachweis der einen oder anderen Trichomonaden-Art in anderen als den beschriebenen Wirtsorganen in den eigenen umfangreichen Untersuchungen in dieser Richtung nicht gelungen.

3. Morphologie der Darmtrichomonaden der Ente.

Die aus dem frisch abgesetzten bzw. direkt aus der Kloake von Hausenten gezüchteten Darmtrichomonaden wurden nach kultureller Anreicherung ebenfalls im Dunkelfeld geprüft und auch nach Nöller gefärbt.

Im Dunkelfeld ist ebenfalls wie bei den Darmtrichomonaden des Huhnes eine deutliche undulierende Membran mit kräftiger Randgeißel zu erkennen, die als frei endende Schleppgeißel über den Körper hinausragt. Auch drei freie Vordergeißeln sind nach längerer Lichteinwirkung, wodurch die Intensität der Bewegung deutlich nachläßt, einwandfrei zu erkennen.

Bei der Prüfung des nach Nöller gefärbten Kulturausstriches werden die im Dunkelfeld beobachteten morphologischen Eigenschaften bestätigt. Von einem „Blepharoblast" nehmen drei etwa gleichlange Vordergeißeln und die Randgeißel der undulierenden Membran ihren Ursprung. Ein Achsenstab, der nach hinten aus dem Körper herausragt, durchzieht den ganzen Körper, am Kern vorbei, bis zum Blepharoblast hin.

Morphologisch handelt es sich bei dieser Trichomonaden-Art wohl um die von Kotlán beschriebene Trichomonas Eberthi. Die zweite von Kotlán beschriebene Art konnte bei den von mir untersuchten Enten nicht nachgewiesen werden.

4. Vorkommen von Flagellaten aus der Gattung der Bodonidae im Rachen und im Darm von Hühnern (Abb. 5).

Außer den Trichomonaden fand ich im Rachen von 3 an Pocken-Diphtherie erkrankten Hühnern eine Protozoenart mit nur einer einzigen Vordergeißel, die sich lebhaft, kaulquappenartig, vorwärts bewegt. Schon im Nativpräparat aus dem Rachenabstrich konnte ich diese einzelligen Lebewesen zahlreich beobachten. Die Züchtung dieser Flagellaten ist auch auf L.E.S.-Nährboden gelungen. Die Nöller'sche Färbung ergab längsovale kleine Formen mit einer freien Vordergeißel, von einem Basalkorn ausgehend. Von diesem Basalkorn nimmt noch eine zweite, etwas längere Geißel, als Schleppgeißel nach hinten, jedoch nicht frei, sondern mit der Körperoberfläche verbunden, ihren Ausgang. Die Länge der gemessenen Exemplare liegt zwischen 5 und 8 μ, die Breite zwischen 1,5 und 2 μ. Eine Mundstelle ist nicht zu erkennen; auch fehlt ein Achsenstab. Geformte Nahrung, wie Bakterien, scheinen sie nicht aufzunehmen; jedenfalls habe ich trotz mehrfacher Färbung keine festen Körperchen in etwaigen Nahrungsvakuolen wie bei den Hühnertrichomonaden gefunden. Erst am Hinterende wird die mit der Körperoberfläche verbundene Schleppgeißel frei.

Nach Nöllers Handbuch der pathogenen Protozoen ist die hier beschriebene Protozoenart in die Gattung der Bodonidae einzureihen. Es heißt dort: „Allen Formen der Familie Bodonidae ist gemeinsam der Besitz zweier am Vorderende oder in seiner Nähe verankerten Geißeln, einer nach vorn gerichteten Vordergeißel und einer nach hinten gerichteten Schleppgeißel. Unterschiede können in verschiedenen Punkten bestehen. So kann diese Schleppgeißel als freie Schleppgeißel verlaufen, oder Anlegung an den Flagellatenkörper zum Teil unter Bildung einer undulierenden Membran aufweisen".

Beim Huhn sind bisher Bodonidae im Blinddarm von Uribe (1921) beschrieben worden, wo ich sie auch wiederholt neben Trichomonaden gefunden habe. Eine undulierende Membran war jedenfalls im Dunkelfeld nie zu erkennen. Feste Teilchen, wie Bakterien, konnten im Körperinnern nicht nachgewiesen werden. Bei Zimmertemperatur hielten sie sich in Kulturen aus einer sterilisierten Kotaufschwemmung mit Leitungswasser 14 Tage beweglich, ja vermehrten sich sogar.

VI. *Pathogene Bedeutung der Trichomonaden.*

Trichomonaden als Krankheitserreger bei Hühnern wurden früher in ursächlichen Zusammenhang mit der Diphtherie gebracht, ehe der Virus-Charakter dieser Krankheit erkannt worden war (Zürn 1882 und Klee 1905).

Wie aus den eigenen Feststellungen über das Vorkommen von Trichomonaden zu schließen ist, siedeln sich diese besonders da gerne an, wo sich Gewebszerfall, insbesondere fibrinös-diphtheroide Entzündungsmassen, vorfinden. Ob und in welchem Grade den Trichomonaden eine ursächliche Bedeutung an der Entstehung dieser entzündlichen Veränderungen zukommt, oder ob sie sogar als alleinige Krankheitserreger in Betracht kommen, ist eindeutig lediglich auf Grund des Nachweises der Trichomonaden in den entzündlichen Veränderungen nicht zu entscheiden. Immer konnten in derartigen Fällen noch andere Krankheitsursachen festgestellt werden, so daß die Trichomonaden, wenn sie in großer Menge auftraten, in den von mir beobachteten Fällen höchstens die Rolle von entzündungsfördernden, sekundären Keimen spielten. Hierzu kommt, daß die Hühnertrichomonaden niemals in Reinkultur in entzündlich verändertem Gewebe gefunden werden konnten, so daß auch andere gleichzeitig vorhandene Protozoen oder auch Bakterien ebenso wie

die Trichomonaden als entzündungsfördernde Mikroorganismen angesehen werden konnten.

Aus diesen Gründen war es angebracht, künstliche Infektionsversuche mit Trichomonadenkulturen zur Prüfung der Pathogenität anzustellen. Eine völlige und einwandfreie Klärung der pathogenen Bedeutung der Trichomonaden war allerdings, wie von vornherein bemerkt sei, deswegen nicht möglich, weil Reinkulturen nicht zur Verfügung standen. Für die Infektionsversuche wurden stark trichomonadenhaltige L.E.S.-Kulturen mit erheblich unterdrücktem Bakterienwachstum (siehe Kulturverfahren) benützt.

a) Prüfung der Pathogenität der Rachentrichomonaden.

Da die Rachentrichomonaden einerseits, mit Ausnahme eines gesunden Huhnes, ausschließlich bei stark an Schnupfen erkrankten Tieren festgestellt wurden, und sie andererseits — wie aus der Literatur hervorgeht — in Fällen von Diphtherie angetroffen wurden, so versuchte ich, zunächst die krankmachende Wirkung der aus diesen Fällen gezüchteten Trichomonaden beim Zustandekommen des Schnupfens und der Diphtherie zu klären.

Versuch I.

Zwei Kubikzentimeter des flüssigen Nährbodenanteils einer stark trichomonadenpositiven L.E.S.-Kultur wurde auf die Schnabel- und Rachenschleimhaut eines gesunden trichomonadenfreien einjährigen Hahnes gebracht. Täglich wurde eine Schleimprobe aus dem Rachen geprüft. Am 4. Tag nach der Übertragung ließen sich Trichomonaden zum letzten Mal kulturell im Rachen nachweisen.

Den gleichen Versuch unternahm ich mit einer 9 Monate alten Leghornhenne. Am 6. Tage nach der Übertragung ließen sich Trichomonaden zum letzten Mal kulturell nachweisen.

Bei beiden Tieren wurde dieser Versuch noch zweimal wiederholt. Jeweils zwischen dem 4. und 7. Tage nach der Übertragung der Trichomonaden waren die angelegten Kulturen wieder negativ.

Ergebnis: Nach Verabfolgung von Trichomonadenkulturen auf die Rachenschleimhaut von 2 gesunden Tieren entstanden keine entzündlichen Veränderungen. Die Trichomonaden ließen sich nach der Übertragung nur 4 bis 7 Tage nachweisen.

Versuch II.

Ein mikroskopisch und kulturell trichomonadenfreies, hochgradig an Schnupfen erkranktes Huhn aus einem Zuchtbetrieb wurde mit einer stark positiven Trichomonadenkultur auf die Nasen- und Rachenschleimhaut infiziert. Eine Schleimprobe aus dem Rachen wurde täglich kulturell geprüft. Trichomonaden ließen sich nach 15 Tagen noch vereinzelt nachweisen.

Ergebnis: Nach einmaliger Infektion mit Trichomonadenkultur auf die entzündlich veränderte Schleimhaut eines schwer an Schnupfen erkrankten Tieres konnten die Parasiten 15 Tage nachgewiesen werden, verschwanden aber wieder noch vor völliger Abheilung der Erkrankung.

Massenhaftes Auftreten und zahlreiche Vermehrung der Trichomonaden kam nicht zustande; Trichomonaden haben sich in der entzündlich veränderten Schleimhaut nur vereinzelt gehalten.

Versuch III.

Auf die fibrinösen Beläge der Schnabelhöhle eines kulturell trichomonadenfreien an Schnupfen erkrankten Tieres brachte ich 1 ccm üppig gewachsener Trichomonadenkultur. Die Trichomonaden ließen sich später auch in diesen mit der Pinzette leicht abhebbaren Belägen regelmäßig nachweisen.

Das Tier wurde geschlachtet. Kropf und unterer Schlundabschnitt waren trichomonadenfrei. Im Blinddarm wurden kulturell dreigeißelige Darmtrichomonaden nachgewiesen.

Ergebnis: Aus diesem Versuch ist zu ersehen, daß sich Trichomonaden in den leicht abhebbaren Schleimhautbelägen der Schnabelhöhle bei Schnupfen erhalten können, sich jedoch nicht zahlreich in diesen ansiedeln und auch nicht in dem distalen Teil der kutanen Schleimhaut des Verdauungsapparates zu finden sind. Gleichzeitig wurde bei diesem Tier spontaner Befall von Darmtrichomonaden festgestellt.

Versuch IV.

Kulturell trichomonadenfreie Junghenne, die nur geringgradig serösen Nasenausfluß, aber keine fibrinösen Beläge in der Schnabelhöhle zeigte, wurde wiederholt mit Trichomonadenkultur infiziert, jedoch konnten die Trichomonaden immer nur 6 bis 8 Tage nach der Infektion kulturell nachgewiesen werden.

Ergebnis: Bei serös-katarrhalischer Nasenentzündung haben sich Trichomonaden trotz wiederholter künstlicher Infektion nicht angesiedelt.

Aus den Versuchen II bis IV ergibt sich die Tatsache, daß die Trichomonaden sich besonders gerne in fibrinös-diphtheroiden Schleimhautbelägen ansiedeln und in diesen auch günstigere Lebensbedingungen vorfinden als in serös-katarrhalischen Prozessen.

Versuch V.

Durch täglich wiederholte starke Infektion mit Trichomonadenkulturen wurde nochmals versucht, eine etwaige krankmachende Wirkung der Trichomonaden nachzuweisen.

Einem vollkommen gesunden 2jährigen kräftigen Hahn träufelte ich täglich, 11 Tage hintereinander, je 2 ccm stark positiver Kultur auf die Schnabelschleimhaut. Jeweils am nächsten Tage waren Trichomonaden weder mikroskopisch noch kulturell nachzuweisen.

Dieses Tier infizierte ich darauf mit Pocken-Virus und brachte nach 4 Tagen auf die sich eben entwickelnden diphtheroiden Beläge 3 Tropfen Trichomonadenkultur; 2 Tage darauf waren Trichomonaden schon im Nativpräparat jederzeit nachzuweisen. Nach völliger Abheilung der Pocken-Diphtherie waren Trichomonaden noch 12 Tage kulturell nachweisbar. Später wurde das Tier noch wiederholt untersucht, ohne daß jedoch Trichomonaden festgestellt werden konnten.

Ergebnis: Trotz wiederholter Einträufelung von Trichomonadenkultur in den Rachen eines gesunden Hahnes konnte eine Haftung oder gar eine entzündungserregende Wirkung der Trichomonaden nicht festgestellt werden. Dagegen siedelten sich Trichomonaden in den diphtheroiden Belägen des später mit Pocken-Virus und Trichomonaden infizierten Tieres massenhaft an, verschwanden aber einige Tage nach völliger Abheilung der Pocken-Diphtherie wieder.

Versuch VI.

Zweijähriger trichomonadennegativer Hahn wurde durch Einfließenlassen von 1 ccm einer üppiges Wachstum zeigenden Trichomonadenkultur in den Rachen infiziert. Nach 5 Tagen war das Tier wieder negativ. Diesen Versuch wiederholte ich nochmals mit dem gleichen Ergebnis, daß der Hahn 4 Tage nach der Infektion wieder negativ war. Innerhalb der nächsten 10 Tage wurde das Tier noch zweimal mit negativem Ergebnis untersucht, und dann mit Pocken-Virus, das in 50%iger Glycerin-Kochsalzlösung konserviert war, infiziert. Am 5. Tag nach der Virus-Infektion wurde das Tier erstmalig wieder untersucht, die angelegte Kultur war positiv.

Obwohl von vornherein nicht anzunehmen war, daß sich Trichomonaden in dem mit 50%iger Glycerin-Kochsalzlösung konservierten Virus-Material lebensfähig erhalten hatten, wurde das Material jeweils zuvor kulturell mit negativem Ergebnis auf Trichomonaden geprüft.

Nach vollständiger Abheilung der Pocken-Diphtherie ließen sich bei diesem Versuchstier Trichomonaden in der angelegten Kultur noch zahlreich nachweisen.

Das letzte kulturell positive Ergebnis hatte ich 19 Tage nach völliger Abheilung der Pocken-Diphtherie. Später konnten Trichomonaden nicht mehr festgestellt werden.

Ergebnis: Bei einem Hahn waren nach Verbringen von Trichomonadenkulturen auf die Rachenschleimhaut Trichomonaden 5 Tage nachweisbar, sie verschwanden darauf, um nach einer 10 Tage später vorgenommenen Infektion mit einwandfrei trichomonadennegativem

Pocken-Virus in den diphtheroiden Entzündungsmassen wieder zahlreich zu erscheinen.

Trichomonaden können sich demnach, ohne mikroskopisch und kulturell nachweisbar zu sein, auf der Rachen- und Schlundschleimhaut gesunder Tiere lebensfähig erhalten und bei Einsatz günstiger Lebensbedingungen (fibrinös-diphtheroide Entzündung) in großer Zahl auftreten.

Versuch VII.

Ein 4 Jahre altes Huhn aus einem bäuerlichen Bestande, das kulturell trichomonadennegativ war, infizierte ich an Kamm und Kehllappen mit dem gleichen Pocken-Virus. Nach 12 Tagen entstand hochgradige Pocken-Diphtherie in der Schnabelhöhle. Eine aus diesen diphtheroiden Belägen angelegte Kultur war positiv. Nach völliger Abheilung der Pocken und der diphtheroiden Beläge in der Schnabelhöhle konnten Trichomonaden bei diesem Tier noch nach 5 Wochen kulturell nachgewiesen werden.

Ergebnis: Aus diesem Versuch ist zu schließen, daß Trichomonaden — obwohl mikroskopisch und kulturell nicht nachweisbar — trotzdem auf der Schleimhaut des Rachens und des Schlundes gesunder Hühner vorhanden sein, sich beim Auftreten entzündlicher Veränderungen der Schleimhaut zahlreich vermehren und dann auch leicht nachgewiesen werden können.

Versuch VIII.

Einjähriger kräftiger Leghorn-Hahn wurde viermal mit stark positiver Trichomonadenkultur auf die gesunde Schnabelschleimhaut infiziert. Nie konnten bei der kulturellen Untersuchung am folgenden Tage Trichomonaden nachgewiesen werden.

Darauf wurde das Tier mit Pocken-Virus infiziert. Trotz regelmäßiger wiederholter Untersuchung waren während der ganzen Dauer der diphtheroiden Erkrankung keine Trichomonaden vorhanden. Erst durch künstliche Infektion mit einigen Tropfen Trichomonadenkultur konnte diese in den Abstrichen bis zur völligen Abheilung der Schleimhautdefekte regelmäßig nachgewiesen werden. Nach Abheilung der Pocken-Diphtherie wurde das Tier geschlachtet. Schlund-, Kropf-, Drüsenmagen-, Dünn- und Blinddarmabstriche waren mikroskopisch und kulturell negativ.

Ergebnis: Ein mikroskopisch und kulturell geprüfter trichomonadenfreier Hahn blieb auch nach der Infektion mit Pocken-Virus trichomonadenfrei. Dies ist ein Beweis für das Vorkommen sicher trichomonadenfreier Hühner. Trichomonaden hielten sich bei diesem Tier aber nach künstlicher Infektion, jedoch nur solange, als die diphtheroide Entzündung bestand.

Versuch IX.

Ein zweijähriger, kulturell trichomonadennegativer Hahn wurde mit Pocken-Virus infiziert. In den diphtheroiden Belägen waren Trichomonaden spontan nicht nachweisbar. Deshalb wurde 1 ccm einer stark positiven Kultur auf die diphteroiden Beläge gegeben. 16 Tage später wurde das Tier geschlachtet. Trichomonaden befanden sich nicht nur in den diphtheroiden Belägen der Rachenhöhle, sondern auch zahlreich und lebhaft beweglich im Kropf, im unteren Schlundabschnitt und auch im Anfangsteil des Drüsenmagens. Muskelmagen, Dünn- und Blinddarm waren mikroskopisch negativ, auch die hiervon angelegten Kulturen blieben negativ.

Ergebnis: Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Trichomonaden pockenkranker Hühner sich nicht nur in den diphtheroiden Belägen aufhalten, sondern auch in den *tieferen* Abschnitten der kutanen Schleimhaut des Verdauungsapparates, jedoch nicht im Muskelmagen und im Darm. Im Drüsenmagen ließen sie sich nur in dem schlundwärts gelegenen Teil nachweisen.

Versuch X.

Ein einjähriger rebhuhnfarbener Italiener-Hahn, kulturell trichomonadennegativ, wurde mit Pocken infiziert. Nach 7 Tagen bestanden schon sehr starke diphtheroide Beläge auf der Schnabelschleimhaut, aber Trichomonaden ließen sich nicht nachweisen. Ich tropfte deshalb mit der Kapillarpipette 5 Tropfen einer stark positiven Kultur auf die Beläge der Schnabelhöhle. Schon am übernächsten Tage waren Trichomonaden im Nativpräparat nachzuweisen. Nach der 3 Tage später erfolgten Tötung wurden Trichomonaden reichlich im oberen Teile des Schlundes und auch im Kropf nachgewiesen. Negativ im Nativpräparat waren Drüsenmagen, Dünndarm, Blinddarm und Muskelmagen. Von diesen Organabschnitten legte ich je eine Kultur an. Die Kultur aus dem Anfangsteil des Drüsenmagens war noch positiv. Muskelmagen und Dünndarm waren kulturell negativ. Der Blinddarm war schwach trichomonadenpositiv. Bei der Betrachtung im Dunkelfeld erwiesen sich die Trichomonaden im Darm als nicht identisch mit den bei dem gleichen Tier in den diphtheroiden Belägen des Rachens und im Kropf gefundenen Trichomonaden. Die Geißeln schlugen etwas langsamer; deutlicher als bei den Rachentrichomonaden war die undulierende Membran zu erkennen, deren Randgeißel das Hinterende des Körpers als Schleppgeißel überragte; auch die wellenförmigen Bewegungen der undulierenden Membran waren langsamer.

Durch die Zerlegung wurde demnach das Vorkommen zweier morphologisch verschiedener Trichomonas-Arten in verschiedenen Abschnitten des Verdauungsapparates eines und desselben Wirtstieres nachgewiesen.

Ergebnis: Dieser Versuch stimmt zunächst mit Versuch VI überein. Außerdem geht daraus hervor, daß sich die Rachen-Schlund-Trichomonaden nur auf der kutanen Schleimhaut vorfinden, nicht dagegen im Darme, wo morphologisch und biologisch einwandfrei

unterscheidbare und deshalb streng zu trennende Darmtrichomonaden vorgefunden wurden, die wiederum nicht auf der kutanen Schleimhaut nachgewiesen werden konnten.

Versuch XI.

Dreijähriger Hahn, kulturell trichomonadenfrei, wurde zweimal mit Trichomonaden künstlich auf die gesunde Rachenschleimhaut infiziert. Pathologische Veränderungen konnten hernach nicht beobachtet werden; die Trichomonaden hafteten auch nicht. Das Tier wurde 3 Wochen später mit Pocken-Virus infiziert. Starke Beläge entstanden am Gaumen, auf der Zunge, in der ganzen Schnabelhöhle bis zum Kehlkopf, jedoch waren Trichomonaden auch kulturell nicht nachweisbar.

Da spontan Trichomonaden sich nicht ansiedelten, obwohl 3 Wochen zuvor zweimal mit Trichomonaden infiziert worden war, brachte ich auf die entzündlichen Beläge einige Tropfen stark positiver Kultur. Die Tötung nach 5 Tagen ergab, daß der Schlund bis etwa 2 cm oberhalb des Kropfes mit diphtheroiden Massen belegt war. In diesen konnten Trichomonaden reichlich festgestellt werden. Auch der Kropf war stark positiv. Nicht mikroskopisch nachweisbar waren Trichomonaden im unteren Schlundabschnitt und im Drüsenmagen. Die hiervon angelegten Kulturen blieben negativ; ebenfalls negativ waren die Kulturen aus Muskelmagen, Dünndarm und Blinddarm.

Die Trichomonaden hielten sich also vorzugsweise in den diphtheroiden Belägen und ihrer näheren Umgebung auf, wanderten in diesem Falle nicht bis in den Anfangsteil des Drüsenmagens, wie dies bei spontaner und meistens auch bei künstlicher Infektion der Fall war.

Ergebnis: Dieser Versuch stimmt im Wesentlichen mit den vorausgehenden Befunden überein, nur mit dem Unterschied, daß die Trichomonaden sich nach künstlicher Infektion eines pockenkranken Tieres mit Trichomonaden-Kulturen nur insoweit feststellen ließen, als diphtheroide Beläge vorhanden waren. Nicht gefunden wurden Trichomonaden im unteren Teil des Schlundes und im Anfangsteil des Drüsenmagens.

Versuch XII.

Ein 4 Jahre altes trichomonadenfreies Landhuhn wurde mit Trichomonaden-Kulturen gefüttert und 3 Tage später mit Pocken infiziert. In den diphtheroiden Belägen ließen sich Trichomonaden stets schon mikroskopisch nachweisen. Außer den Trichomonaden waren im mikroskopischen Bilde noch zweigeißelige Gebilde zu sehen, die sich lebhaft kaulquappenartig durch das Gesichtsfeld bewegten. In jedem Rachenabstrich konnte ich diese einzelligen Lebewesen finden. Es ist auch gelungen, sie zu züchten und nach genügender Anreicherung zu färben. Nach der 14 Tage nach der Infektion mit Pocken-Virus erfolgten Tötung konnten diese zweigeißeligen Flagellaten jedoch nur in den diphtheroiden Belägen, nicht aber im Kropf und Drüsenmagen, nachgewiesen werden, während Trichomonaden

mikroskopisch im Kropf und kulturell im unteren Schlundabschnitt zwischen Kropf und Drüsenmagen gefunden wurden. Negativ verlief die kulturelle Untersuchung des Dünn- und Blinddarmes.

Vor Beginn des Versuches konnten diese in die Gattung der Bodonidae gehörigen zweigeißeligen Flagellaten weder mikroskopisch noch kulturell nachgewiesen werden; in den diphtheroiden Massen hat sich dieser Parasit spontan angesiedelt und auch zahlreich vermehrt.

Ergebnis: Das Ergebnis dieses Versuches stimmt hinsichtlich des Auftretens der Trichomonaden mit denen der früheren Versuche überein.

Als neuer Befund kommt der Nachweis von zweigeißeligen Flagellaten aus der Gattung der Bodonidae hinzu, die sich spontan angesiedelt haben und ähnlich wie die Trichomonaden sich mit Vorliebe, ja in diesem Falle sogar ausschließlich, in den diphtheroiden Belägen aufhielten.

Wie aus diesen Versuchen klar hervorgeht, finden sich Trichomonaden stets reichlich da, wo diphtheroide Beläge vorhanden sind; inwieweit sie jedoch Anteil haben an den entzündlichen Veränderungen und dadurch den gesamten Prozeß ungünstig beeinflussen können, versuchte ich an Hand einer Versuchsreihe mit Junghähnen darzutun. Ob das Vorhandensein von Trichomonaden in den diphtheroiden Belägen eine irgendwie ins Gewicht fallende Beeinflussung des Prozesses bedingt, oder ob es sich nur um harmlose Kommensalen handelt, versuchte ich durch Pocken-Versuche an 2 Gruppen gleichaltriger, aus gleicher Bezugsquelle stammender und unter den gleichen Lebensbedingungen gehaltener Junghähne festzustellen. Zu diesem Zweck wurde der Verlauf einer Pocken-Infektion mit und ohne Trichomonaden in 2 Versuchsreihen von je 5 bzw. je 10 und je 15 Junghähnen geprüft. Die eine Versuchsreihe wurde mit einem trichomonadenfreien Pocken-Virus, die andere mit dem gleichen Virus und 7 Tage später, als die Pocken-Diphtherie schon ausgebildet war, mit Kultur-Trichomonaden infiziert. Auf diese Weise sollte es ermöglicht werden, den Einfluß der Trichomonaden auf das Krankheitsgeschehen zu prüfen.

Versuch XIII.

Zehn 6 Wochen alte Junghähne wurden, nach vorheriger negativer, mikroskopischer und kultureller Untersuchung auf Trichomonaden, durch Anritzen des Gaumens und Einreiben von Pocken-Virus infiziert. Nach 7 Tagen waren alle Tiere etwa gleich schwer an Pocken-Diphtherie erkrankt. Bei 5 Tieren brachte ich nunmehr auf die diphtheroiden Beläge einige Tropfen stark positiver Trichomonaden-Kultur und hielt sie getrennt von den andern.

Die Stärke der diphtheroiden Erkrankung wurde täglich geprüft, außerdem das Vorhandensein von Trichomonaden in beiden Versuchsreihen und jedes Mal dabei festgestellt, ob die Versuchsgruppe ohne Trichomonaden auch tatsächlich trichomonadenfrei blieb; allerdings hatten sich 2 Tiere dieser Gruppe mit einzelligen Flagellaten aus der Gattung der Bodonidae spontan infiziert. Sie ließen sich am 9. bzw. 12. Tage nach der Pocken-Infektion erstmalig kulturell nachweisen.

Verlauf des Versuches (vgl. Tabelle V).

Der Verlauf der Krankheit, insbesondere die Stärke und Dauer der Pocken-Diphtherie und die eingetretenen Todesfälle der beiden Versuchsreihen sind in der Tabelle V übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle V.

Versuchstier Nr.	Künstliche Infektion mit Trichomon.	Stärke der Pocken-Diphtherie	Krankheitsdauer in Tagen	Bemerkungen
1	Nein	+++	22	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
2	„ *)	+++	35	diphtheroiden Beläge abgeheilt
3	„	++	42	„ „
4	„ *)	++	19	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
5	„	+++	15	„ „ „
6	Ja	++++	14	„ „ „
7	„	+++	20	„ „ „
8	„	+++	20	„ „ „
9	„	++++	13	„ „ „
10	„	+++	12	„ „ „

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß der Grad der Pocken-Diphtherie in der Versuchsreihe ohne gleichzeitige Trichomonaden-Infektion bei 3 Tieren stark (+++) und bei 2 Tieren mittelstark (++) zu bezeichnen war.

Bei den Versuchstieren mit zusätzlicher Trichomonaden-Infektion erreichte die Erkrankung bei 2 Tieren sehr starke (++++) und bei 3 Tieren starke (+++) Ausbreitung.

*) Die Tiere (Nr. 2 und 4) wiesen nach Ausbruch der Pocken-Diphtherie in den diphtheroiden Belägen der Schnabelhöhle kulturell zweigeißelige Flagellaten aus der Gattung der Bodonidae auf.

Die Krankheitsdauer betrug in der ersten Reihe (Versuchstier Nr. 1 bis 5) 15 bis 42 (durchschnittlich 27) Tage. Bei den übrigen Tieren (Nr. 5 bis 10) nahm die Krankheit einen mehr akuten Verlauf (14 bis 20, im Durchschnitt nur 16 Tage). Dabei ist außerdem zu berücksichtigen, daß sämtliche Tiere der letzten Gruppe an Pocken-Diphtherie verendeten, während in der ersten nur 3 Tiere daran starben.

Von der Wiedergabe der umfangreichen Zerlegungsprotokolle wurde Abstand genommen, weil sie übereinstimmend eine stark ausgeprägte Pocken-Diphtherie als Todesursache ergaben. Trichomonaden wurden mikroskopisch und kulturell bei allen damit infizierten Tieren nachgewiesen. Auch hierbei wurde stets das früher gewonnene Ergebnis bestätigt, daß diese Trichomonaden sich nur im Rachen, Schlund und Kropf, nicht dagegen im Darm ansiedeln.

Ergebnis: Von den Versuchstieren, die nur mit Pocken, nicht aber gleichzeitig mit Trichomonaden infiziert worden waren und auch offensichtlich geringgradiger an Pocken-Diphtherie erkrankten, überstanden zwei Tiere die Krankheit, während die andere, gleichzeitig mit Pocken-Virus und Trichomonaden infizierte Gruppe von Versuchstieren restlos daran verendet ist. Nach diesen Ergebnissen dürfte man wohl annehmen, daß die Trichomonaden pathogene Eigenschaften aufweisen und den Krankheitsverlauf der Pocken-Diphtherie verschlimmern können. Jedoch kann auf Grund dieses kleinen Versuches kein endgültiges Urteil über die Pathogenität dieser Trichomonas-Art gefällt werden, so daß es nunmehr angezeigt erschien, den gleichen Versuch im größeren Umfange zu wiederholen.

Versuch XIV.

Dieser Versuch wurde mit dem gleichen Ziel wie der Versuch XIII durchgeführt, jedoch aus den oben erwähnten Gründen unter Verwendung einer größeren Anzahl von Versuchstieren.

Verlauf des Versuches (vgl. Tabelle VI).

Die Stärke der Pocken-Diphtherie war in der ersten Versuchsreihe bei 2 Tieren sehr stark (++++), bei 3 Tieren stark (+++) und bei den übrigen 5 Tieren mittelstark (++) zu bewerten. Im besonderen waren in der Diphtherie-Trichomonaden-Gruppe 4 Tiere sehr stark (++++), 3 Tiere stark (+++) und 3 Tiere mittelstark (++) an Pocken-Diphtherie erkrankt.

Von den lediglich mit Pocken-Virus infizierten Tieren, die immer trichomonadenfrei blieben, verendeten 8 Tiere nach einer Krankheitsdauer von 18 bis 32 (durchschnittlich 27) Tagen, während 2 Tiere nach 37 bzw. 41 Tagen ausheilten. Von den außerdem mit Trichomonaden künstlich infizierten Tieren verendeten 9 Tiere nach einer Krankheitsdauer von 12 bis 27 (durchschnittlich 19) Tagen. Ein Tier gesundete nach 38 Tagen. Bei den hochgradig an Pocken-Diphtherie erkrankten Tieren beschränkten sich die gelblich-käsigen Beläge nicht

Tabelle VI.

Versuchstier Nr.	Künstliche Infektion mit Trichomon.	Stärke der Pocken-Diphtherie	Krankheitsdauer in Tagen	Bemerkungen
1	Nein	++	41	diphtheroiden Beläge abgeheilt
2	„	++	25	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
3	„	++	37	diphtheroiden Beläge abgeheilt
4	„	+++	24	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
5	„	++	32	„ „
6	„	+++	26	„ „
7	„	++++	19	„ „
8	„	++++	24	„ „
9	„	++	25	„ „
10	„	+++	18	„ „
11	Ja	++++	14	„ „
12	„	++++	14	„ „
13	„	++	18	„ „
14	„	+++	17	„ „
15	„	+++	14	„ „
16	„	++++	12	„ „
17	„	++++	15	„ „
18	„	+++	27	„ „
19	„	++	24	„ „
20	„	++	38	diphtheroiden Beläge abgeheilt

nur auf die Schnabelhöhle und auf den Kehlkopf, sondern auch die Infraorbitalhöhle war bei mehreren Tieren ganz mit käsigen Massen angefüllt. Die Augen waren meistens geschlossen, die Augenlider verklebt. Auch bestand bei mehreren Tieren hochgradiger Nasenausfluß und eine Anschwellung der Augen- und Unteraugenhöhle durch Ansammlung käsiger Massen. Das Krankheitsbild wurde dadurch dem des ansteckenden Schnupfens ähnlich.

Öfters versuchte ich erfolglos, bei den trichomonadenpositiven Tieren mikroskopisch und kulturell in dem aus den Nasenöffnungen abfließenden Exsudat Trichomonaden nachzuweisen, obwohl bei der Zerlegung bei Versuchstier Nr. 12, 18 und 19 in den käsigen Belägen der Nasenhöhle Trichomonaden kulturell festzustellen waren.

Das *Ergebnis* dieses Versuches deckt sich weitgehend mit dem des vorhergehenden. Man gewinnt den Eindruck, daß der Verlauf der Pocken-Diphtherie durch eine gleichzeitig bestehende Trichomonaden-Infektion ungünstig beeinflußt wird, wie sich aus dem Vergleich des Krankheitsverlaufs und der Zahl der Todesfälle in den beiden Versuchsgruppen schließen läßt.

Versuch XV.

Auch dieser Versuch wurde mit dem gleichen Ziel und der gleichen Versuchsanordnung wie die Versuche XIII und XIV angestellt, nur mit dem Unterschied, daß er mit einem größeren Tiermaterial (15 Tiere in jeder Gruppe) durchgeführt wurde.

Verlauf des Versuches (vergl. Tabelle VII).

In der nur mit Pocken-Virus infizierten Hähnen besetzten Versuchsreihe erkrankten alle, und es verendeten 13 Tiere nach einer Krankheitsdauer von 12 bis 24 (durchschnittlich 16) Tagen an Pocken-Diphtherie; ein Tier dieser Gruppe verendete während des Versuches interkurrent. In der Gruppe der mit Pocken-Virus und Trichomonaden infizierten Tiere verendeten 12 Tiere nach einer Krankheitsdauer von 10 bis 19 (durchschnittlich 14) Tagen; 2 Tiere starben interkurrent. Von jeder der beiden Versuchsgruppen gesundete ein Tier nach 34 bzw. 35 Tagen.

Der Umfang der diphtheroiden Beläge war in der ersten Gruppe bei 5 Tieren sehr stark (++++), bei 6 Tieren stark (+++), bei 2 Tieren mittelstark (++) und bei einem Tier nur schwach (+) ausgebildet. In der 2. Gruppe (Versuchstier Nr. 15 bis 30) bestand eine sehr starke Pocken-Diphtherie (++++) bei 6 Tieren, eine starke (+++) bei 6 Tieren und eine mittelstarke Entwicklung der diphtheroiden Beläge (++) bei einem Tiere.

Ein geringer Unterschied im Krankheitsverlauf der Tiere beider Gruppen läßt sich demnach nur insofern erkennen, als der Verlauf bei den mit Pocken-Virus und Trichomonaden infizierten Tieren im Durchschnitt 15 Tage betrug, während er sich bei den Tieren der 1. Gruppe auf 16 Tage erstreckte. Durchschnittlich waren die diphtheroiden Beläge bei den Tieren mit gleichzeitiger Pocken-Virus- und Trichomonadeninfektion umfangreicher und der Tod ist auch rascher eingetreten als bei den nur mit Pocken-Virus infizierten Tieren.

Tabelle VII.

Versuchstier Nr.	Künstliche Infektion mit Trichomon.	Stärke der Pocken-Diphtherie	Krankheitsdauer in Tagen	Bemerkungen
1	Nein	+++	13	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
2	„	++++	13	„ „
3	„	++++	12	„ „
4	„	++	23	„ „
5	„	+	34	diphtheroiden Beläge abgeheilt
6	„	+++	16	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
7	„	++++	14	„ „ *)
8	„	+++	16	„ „
9	„	+++	14	„ „
10	„			interkurrent verendet am 4. Tage nach der Infektion
11	„	+++	12	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
12	„	++++	12	„ „
13	„	+++	18	„ „
14	„	+++	18	„ „ **)
15	„	++	24	„ „

*) Trichomonaden spontan am 10. Tage nach der Infektion mit Pocken-Virus nachgewiesen.

**) Trichomonaden spontan am 12. Tage nach der Infektion mit Pocken-Virus nachgewiesen.

Tabelle VII (Fortsetzung).

Versuchstier Nr.	Künstliche Infektion mit Trichomon.	Stärke der Pocken-Diphtherie	Krankheitsdauer in Tagen	Bemerkungen
16	Ja	+++	14	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
17	„	++++	12	„ „
18	„	+++	18	„ „
19	„	++++	13	„ „
20	„	+++	16	„ „
21	„	+++	35	diphtheroiden Beläge abgeheilt
22	„	++	19	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
23	„	++++	16	„ „
24	„	++++	16	„ „
25	„	++++	10	„ „
26	„			interkurrent verendet am 3. Tage nach der Infektion
27	„	+ + +	13	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
28	„			interkurrent verendet am 7. Tage nach der Infektion
29	„	+++	15	verendet infolge der diphtheroiden Erkrankung
30	„	++++	10	„ „

Kulturell konnten bei Versuchstier Nr. 7 und 14 am 10. bzw. 12. Tage nach der Pocken-Infektion Trichomonaden nachgewiesen werden. Die Tiere hatten sich spontan infiziert, weil beide Gruppen in einem gemeinsamen Auslauf gehalten wurden. Bei der Sektion waren die Trichomonaden nur in den diphtheroiden Belägen, nicht aber im Kropf und unteren Schlundabschnitt nachweisbar.

Von jedem der verendeten Tiere wurde eine genaue Zerlegung vorgenommen und die verschiedenen Abschnitte des Verdauungsapparates mikroskopisch und kulturell auf Trichomonaden untersucht. Darmtrichomonaden wurden kulturell nachgewiesen bei Versuchstier Nr. 1, 5, 7 und 8. Bei der 2. Versuchstiergruppe wurden die dreigeißeligen Darmtrichomonaden mit durchgehender undulierender Membran bei 5 Tieren nachgewiesen (Nr. 22, 24, 25, 26 und 30).

Ergebnis: Obwohl die Erkrankung bei den mit Pocken-Virus und Trichomonaden infizierten und verendeten Tieren im Vergleich zu den nur mit Pocken-Virus infizierten Tieren einen schnelleren Verlauf nahm und der Umfang der aufgetretenen diphtheroiden Beläge bei gleichzeitiger Trichomonaden-Infektion etwas ausgedehnter war, kann doch nicht das eindeutige, klare Ergebnis der beiden vorhergehenden Versuche voll bestätigt werden.

Immerhin kann man als zusammenfassendes Gesamtergebnis der drei letzten Versuche feststellen, daß, wenn auch nicht regelmäßig deutlich ausgeprägt, eine Verschlimmerung der Pocken-Diphtherie durch sekundäre Beteiligung der Trichomonaden zustande kommen kann, falls diese sich in großer Menge in den diphtheroiden Belägen ansiedeln.

b) *Zur Prüfung der Pathogenität der Darmtrichomonaden.*

Zunächst wurde der Kot einer Reihe von Junghähnen auf Trichomonaden untersucht. Zu diesem Zwecke wurde eine aus der Kloake entnommene Kotprobe mikroskopisch und kulturell verarbeitet. Insgesamt 12 Junghähne, bei denen nach dreimaliger Untersuchung Trichomonaden nicht nachgewiesen wurden, fanden Verwendung.

Die Infektion erfolgte mit 3 ccm einer stark gewachsenen Kultur von Darmtrichomonaden, die unter Umgehung des Kropfes mit einer feinen Gummi-Sonde bis in den Magen geleitet wurden.

Sämtliche Tiere wurden durch tägliche Entnahme einer Kotprobe aus der Kloake kulturell auf Trichomonaden geprüft. Am 9. Tage nach der Infektion ließen sich Trichomonaden bei zwei Tieren kulturell vereinzelt nachweisen. Innerhalb von 4 Wochen nach der Infektion konnten bei 4 Tieren im Kot Trichomonaden nachgewiesen werden. Klinisch zeigten die Tiere keine Krankheitserscheinungen, auch keinen Durchfall. Die Tötung der Tiere erfolgte 35 Tage nach der Infektion. Die im Anschluß daran vorgenommene kulturelle Untersuchung ergab, daß außer den 4 Tieren, die nach der Infektion Trichomonaden-Ausscheider wurden, 3 weitere Tiere Trichomonaden in den Blinddärmen beherbergten. 5 Tiere blieben trotz der künstlichen Infektion trichomonadennegativ.

Auf der Darmschleimhaut konnten bei den infizierten Tieren irgendwelche Veränderungen entzündlicher Art nicht festgestellt werden.

Über die pathogene Bedeutung der Trichomonaden ist aus dem Verlauf dieser Versuche zusammenfassend folgendes abzuleiten:

Wenn man berücksichtigt, daß Trichomonaden sowohl beim Menschen als auch bei der Taube und, wie die eigenen Versuche ergeben haben, auch beim Huhne besonders häufig und meist auch in großer Zahl vor allem bei exsudativer Entzündung der Schleimhäute des Verdauungsapparates angetroffen werden, so könnte man daraus auf eine primäre pathogene Bedeutung der Trichomonaden schließen. Tatsächlich ist aber die überwiegende Mehrzahl der Autoren geneigt, andere, meistens unbekannte Krankheitsursachen, hierfür verantwortlich zu machen.

Mit Recht wird dieser Standpunkt geltend gemacht, da sich nicht selten selbst beträchtliche Mengen von Trichomonaden auf Schleimhäuten ansiedeln, ohne irgendwelche nachweisbaren klinischen Erscheinungen auszulösen. Auf Grund meiner eigenen Untersuchungen komme ich zu dem Schluß, daß die Trichomonaden beim Huhn primär eine Krankheit nicht veranlassen können. Sie siedeln sich dagegen sekundär gern in fibrinös-eitrigen oder nekrotischen Entzündungsmassen an, weil sie hier besonders günstige Lebensbedingungen vorfinden, wie dies auch experimentell durch die Pocken - Diphtherie - Versuche einwandfrei nachgewiesen werden konnte. In den diphtheroiden Belägen zeigten die Trichomonaden eine sehr gute Entwicklung. Man kann daher bestenfalls annehmen — und hierfür sprechen auch meine Versuche bis zu einem gewissen Grade —, daß die Trichomonaden bei sehr starkem Auftreten eine Verschlimmerung des Krankheitsprozesses verursachen können. In erster Linie sind sie aber wohl nur als harmlose „Kommensalen" aufzufassen.

Auf keinen Fall ist es gerechtfertigt, bei massenhaftem Auftreten der Trichomonaden im Verlauf eines Krankheitsprozesses ohne weiteres auf ihre pathogene Bedeutung zu schließen, wie dies u. a. aus meinen Infektions-Versuchen hervorgeht. Trotz zahlreich vorhandener Trichomonaden in den diphtheroiden Belägen ist doch

die primäre und bedeutungsvollste Ursache der Diphtherie das *Pocken-Virus*.

Es wäre ein Fehlschluß, aus der Feststellung des Vorhandenseins von Trichomonaden in großer Menge in einem Krankheitsprozeß diese Protozoen als die Ursache der vorliegenden Erkrankung haftbar zu machen. Es liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt. Gewebszerfall entzündlicher Art schafft für die Ansiedlung und Vermehrung dieser Flagellaten besonders günstige Lebensbedingungen.

D. Schlußfolgerungen.

Abschließend lassen sich aus meinen Versuchen folgende Schlüsse ziehen:

1. Im Gegensatz zu den Tauben, bei denen Trichomonaden auf der gesunden Rachenschleimhaut häufig anzutreffen sind, wurden Trichomonaden auf der Schleimhaut des Rachens und Schlundes von gesunden Hühnern nur selten gefunden (0,2 % der untersuchten Tiere). Bei Enten und Gänsen wurden Trichomonaden im Rachen überhaupt nicht nachgewiesen.

2. Bei schnupfenkranken Hühnern ließen sich in 3,5 % der untersuchten Fälle in den Entzündungsmassen der Schnabelhöhle Trichomonaden nachweisen.

3. Trichomonaden waren im gesunden Darm sowohl bei Hühnern als auch bei Enten bei etwa der Hälfte der untersuchten Tiere anzutreffen. Bei 58 % der positiven Fälle lag eine durch verschiedene Ursachen bedingte Darmentzündung (chronische Kokzidiose, Wurmbefall, unspezifische Darmentzündung) vor.

4. Die in den oberen Luftwegen schnupfenkranker Tiere festgestellten Trichomonaden sind identisch mit den in den oberen Verdauungswegen vorgefundenen Trichomonaden.

5. Es bestehen grundsätzlich morphologische Unterschiede hinsichtlich der Größe und Gestalt, besonders aber hinsichtlich der Geißelzahl und der Länge der undulierenden Membran zwischen den beiden Trichomonas-Arten, die einerseits in der Nasenhöhle, im Rachen und Schlund und andererseits im Darm vorgefunden wurden. Die im Rachen und in der Nasenhöhle vorgefundenen Trichomonaden besitzen 4 freie Vordergeißeln, eine undulierende Membran, die aber das Hinterende des Körpers nicht erreicht, und einen durchgehenden Achsenstab, der den Körper nach hinten überragt. Die aus dem Darm gezüchteten Trichomonaden besitzen nur 3 freie Vordergeißeln, eine kräftige undulierende Membran, die den ganzen Körper bis an das Hinterende umzieht und deren Randfibrille mit einer nach hinten frei auslaufenden Schleppgeißel endet.

6. Neben den Trichomonaden wurden Flagellaten aus der Gattung der Bodonidae sowohl in den diphtheroiden Belägen des Rachens pockenkranker Hühner, als auch im gesunden Darm gefunden.

7. Am besten eignete sich für den kulturell-diagnostischen Nachweis der Trichomonaden der modifizierte L.E.S.-Nährboden. Der feste Bestandteil des Nährbodens, der aus 4 mit Glasperlen geschüttelten Eiern, 40 ccm sterilem Pferdeserum und 50 ccm Lockelösung besteht, wird durch Erwärmung bis 80° schräg erstarrt und mit einem Gemisch von physiologischer Kochsalzlösung und Eiweiß (10:1) überschichtet.

8. Eine primäre Erkrankung konnte durch eine Infektion mit Rachentrichomonaden nicht ausgelöst werden. Lediglich eine Verschlimmerung einer primären Erkrankung (Pocken-Diphtherie) konnte durch sekundäre Beteiligung der Trichomonaden bis zu einem gewissen Grade festgestellt werden, falls diese sich sehr zahlreich im entzündlich veränderten Gewebe ansiedelten. Eine durch Trichomonaden verursachte natürliche Krankheit der Hühner konnte nicht festgestellt werden.

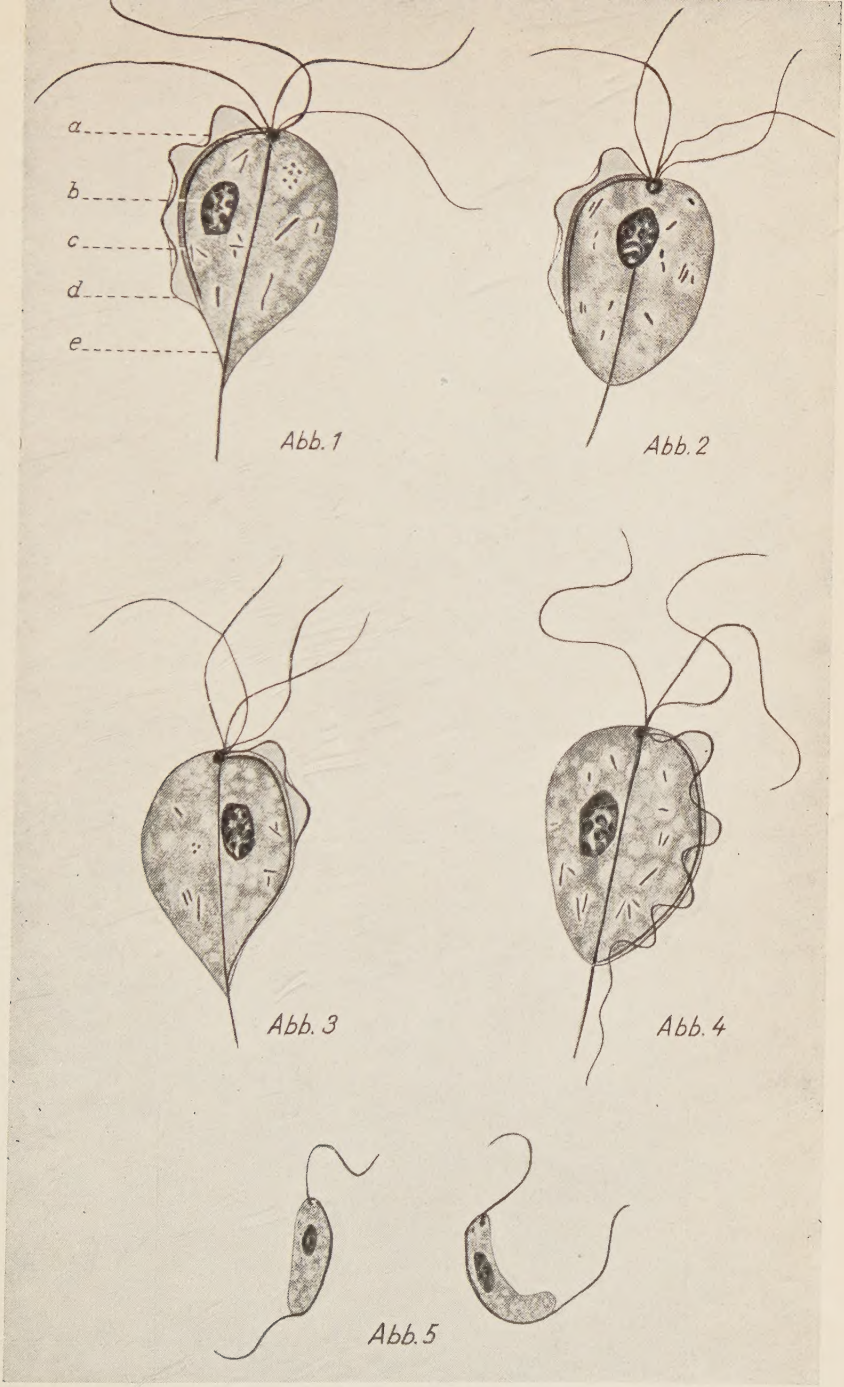

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 4

Abb. 5

a = Blepharoblast; b = Kern; c = Basalfibrille der undulierenden Membran;
d = Randfibrille der undulierenden Membran; e = Achsenstab

E. Literaturverzeichnis.

1. *Bos, A.:* Über Trichomoniasis bei Tauben. — Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale Bd. 126, S. 550 (1932).
2. derselbe: Über Trichomoniasis bei Tauben. — Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale Bd. 130, S. 220 (1933).
3. derselbe: Über Trichomoniasis bei Tauben. — Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale Bd. 132, S. 453 (1934).
4. *Cauthen, G.:* Studies on trichomonas columbae a flagellate parasitic in pigeons and doves. — American Journal of Hygiene Bd. 23, S. 132 (1935).
5. *Doflein, F.* und *Reichenow, E.:* Lehrbuch der Protozoenkunde. — Verlag von G. Fischer, Jena 1929.
6. *Hartmann* und *Chagas:* Flagellatenstudien. — Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Bd. II (1910).
7. *Heelsbergen, v. T.:* Handbuch der Geflügelkrankheiten und der Geflügelzucht. — Verlag von F. Enke, Stuttgart 1929.
8. *Klee, R.:* Die hauptsächlichsten Geflügel-Krankheiten. S. 16. — Expedition der Geflügel-Börse (R. Freese) Leipzig 1905.
9. *Kotlàn, A.:* Zur Kenntnis der Darmflagellaten aus der Hausente und anderen Wasservögeln. — Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale Bd. 90, S. 24 (1923).
10. *Martin, C. H.* and *Robertson, M.:* Further observations on the caecal parasites of fowls with some reference to the rectal fauna of other vertebrates. — Journal Quarterly of microscopical science, Vol. 57, Part. 1, p. 53 (1911).
11. *Mießner, H.* und *Hansen, K.:* Trichomoniasis der Tauben. — Deutsche tierärztliche Wochenschrift Bd. 44, S. 323 (1936).
12. *Nieschulz, O.* und *Bos, A.:* Über die Benennung und Morphologie der Taubentrichomonaden. — Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale Bd. 135, S. 474 (1935/36).
13. *Nöller, W.:* Eine halbtrockene Giemsa-Färbung für Darmflagellaten. — Zentralblatt für Bakteriologie Referate Bd. 76, S. 239 (1924). Sitzungsbericht der Berliner Gesellschaft für Mikrobiologie vom 18. Februar 1924.
14. *Oguma:* On a species of trichomonas, parasitic in pigeon squabs. — Journal Fac. Sci. Hokhaido Imperial. University, Series 6, S. 117 (1931).
15. *Prowazek, v. S.* und *Nöller, W.:* Handbuch der pathogenen Protozoen, Verlag I. A. Barth, Leipzig 1928 und 1931.
16. *Ratz, v. St.:* Trichomonas aus der Leber der Tauben. — Zentralblatt für Bakteriologie I. Originale Bd. 71, S. 184 (1913).